

Univerzita Karlova  
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Speciální chemicko-biologické obory  
Studijní obor: Molekulární biologie a biochemie organismů



Eliška Mádrová

Význam kanabinoidní signalizace v neuroprotektci  
The role of cannabinoid signaling in neuroprotection

Bakalářská práce

Vedoucí práce: doc. RNDr. Jiří Novotný, DSc.

Praha, 2019

### **Poděkování:**

Ráda bych poděkovala svému školiteli doc. RNDr. Jiřímu Novotnému, DSc. za cenné rady a připomínky při zpracování této práce. Dále děkuji své rodině a příteli za psychickou podporu během celé doby studia.

### **Prohlášení:**

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 14. 8. 2019

Podpis

## ABSTRAKT

Název kanabinoidního systému pochází od Konopí setého (*Cannabis sativa*) obsahující  $\Delta^9$ -THC, které vyvolává psychotropní efekt skrze kanabinoidní receptory. Ukázalo se, že  $\Delta^9$ -THC není jediným ligandem kanabinoidního systému, ale že existují endogenní kanabinoidy přirozeně se vyskytující v lidském těle. Hlavním z těchto endogenních kanabinoidů je anandamid a 2-arachidonoylglycerol, které působí na více různých receptorů, primárně na kanabinoidní receptory CB1 a CB2, spadající do skupiny receptorů spřažených s G-proteiny, ale mohou také působit na vaniloidní receptor TRPV1 nebo na jaderné receptory aktivované peroxizómovými proliferátory PPAR. Studium kanabinoidního systému bylo zjištěno, že kanabinoidy mohou modulovat některé buněčné procesy, jako je buněčný růst, proliferace a diferenciace buněk, apoptóza a vnitrobuněčná koncentrace  $\text{Ca}^{2+}$  iontů. V poslední době se zkoumá hlavně jejich užitečnost pro léčbu neurodegenerativních onemocnění, např. Alzheimerovy choroby, roztroušené sklerózy nebo epilepsie, jelikož se ukázalo, že podporují přežití neuronů během excitotoxicity a modulují výlev některých cytokinů, které jsou odpovědné za regulaci imunitních funkcí a zánětlivé odpovědi.

**Klíčová slova:** kanabinoidní receptory, G proteiny, neuroprotektce,  $\Delta^9$ -THC, endokanabinoidní systém

## ABSTRACT

The name of the endocannabinoid system comes from *Cannabis sativa* which contains  $\Delta^9$ -THC that causes psychotropic effects through cannabinoid receptors. It was discovered that  $\Delta^9$ -THC is not the only ligand of the cannabinoid system but there also naturally exist endogenous cannabinoids in the human body. The main endogenous cannabinoids are anandamide and 2-arachidonoylglycerol which act on various receptors, primarily cannabinoid receptors CB1 and CB2 that fall into a group of G-protein coupled receptors, but they may also affect vanilloid receptor TRPV1 or nuclear peroxisome proliferator-activated receptor PPAR $\gamma$ . By studying the cannabinoid system, it was discovered that cannabinoids can modulate some of the cellular processes such as cell growth, proliferation and differentiation of cells, apoptosis and intracellular concentration of  $\text{Ca}^{2+}$ . Recently they have been primarily studied for their usefulness in the treatment of neurodegenerative diseases, for example, Alzheimer's disease, multiple sclerosis or epilepsy because it has been shown that they support the survival of neurons during excitotoxicity and they modulate the release of cytokines responsible for the regulation of the immune system and inflammatory response.

**Key words:** cannabinoid receptors, G proteins, neuroprotection,  $\Delta^9$ -THC, endocannabinoid system

# OBSAH

1. ÚVOD .....	1
2. LIGANDY KANABINOIDNÍCH RECEPTORŮ .....	1
2.1. $\Delta^9$ -TETRAHYDROKANABINOL .....	1
2.2. KANABINOL.....	2
2.3. KANABIDIOL.....	3
2.4. ENDOGENNÍ KANABINOIDY .....	3
2.4.1. ANANDAMID .....	4
2.4.2. 2-ARACHIDONOYLGLYCEROL .....	5
3. RECEPTORY.....	5
3.1. CB1 RECEPTOR .....	6
3.2. CB2 RECEPTOR .....	6
3.3. NON-CB RECEPTORY .....	8
3.3.1. TRPV1 .....	8
3.3.2. PPAR $\gamma$ .....	8
3.3.3. GPR55.....	8
4. SIGNALIZACE.....	9
4.1. ADENYLÁTCYKLÁZA .....	9
4.2. MAP KINÁZA .....	10
4.3. IONTOVÉ KANÁLY.....	11
4.4. MODULACE Ca <sup>2+</sup> IONTŮ.....	12
5. NEUROPROTEKTIVNÍ MECHANISMY KANABINOIDŮ .....	12
5.1. OCHRANA PROTI ISCHEMII .....	12
5.2. OCHRANA PROTI NEUROINFLAMACI .....	13
6. VÝZNAM KANABINOIDŮ V LÉČBĚ NEURODEGENERATIVNÍCH ONEMOCNĚNÍ.....	15
6.1. ALZHEIMEROVA CHOROBA.....	15
6.2. ROZTROUŠENÁ SKLERÓZA .....	16
6.3. PARKINSONOVA CHOROBA .....	17
6.4. EPILEPSIE .....	18
6.5. TRAUMATICKÉ PORANĚNÍ MOZKU .....	19
7. ZÁVĚR.....	21
8. SEZNAM POUŽITÉ LITERARTURY .....	22

## SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

A $\beta$	amyloid beta
AC	adenylátcykláza
AE	anandamid
2-AG	2-arachidonoylglycerol
AMPA	$\alpha$ -amino-3-hydroxy-5-metyl-4-isoxazolpropionová kyselina
ATP	adenosintrifosfát
cAMP	cyklický adenosinmonofosfát
CB1	kanabinoidní receptor 1. typu
CB2	kanabinoidní receptor 2. typu
CBD	kanabidiol
CNB	kanabinol
CHO	buněčná linie z vaječníku křečka rodu <i>Cricetulus griseus</i>
CNS	centrální nervová soustava
CP-55,940	agonista CB1 receptoru, syntetický kanabinoid
DAG	diacylglycerol
DAGL	diacylglycerolipáza
EAE	experimentální autoimunní encefalomyelitida
ERK	extracelulárním signálem regulovaná kináza
FAAH	amidhydroláza mastných kyselin
GABA	kyselina $\gamma$ -aminomáselná, neuropřenašeč
GIRK	dovnitř usměřňující draslíkový kanál
GTP	guanosintrifosfát
HL60	leukemická buněčná linie
HU-210	agonista CB1 a CB2 receptoru, syntetický kanabinoid
IFN- $\gamma$	interferon $\gamma$
IL-1 $\beta$	interleukin 1 $\beta$
IL-6	interleukin 6
iNOS	inducibilní NO syntáza
JWH-133	agonista CB2 receptoru, syntetický kanabinoid

M1/M2	fenotyp prozánětlivý/protizánětlivý makrofág
MAGL	monoacylglycerolová lipáza
MAP	kináza mitogenem aktivovaná proteinkináza
MEK	protein-kináza, součást MAP kinázové signální kaskády
mRNA	mediátorová ribonukleová kyselina
NF-κB	nukleární faktor κB
NMDA	N-metyl-D-asparagová kyselina
NO	oxid dusnatý
PKA	proteinkináza A
PKC	proteinkináza C
PLC	fosfolipáza C
PPARγ	jaderné receptory aktivované peroxizómovými proliferátory
PTX	pertussis toxin
ROS	reaktivní formy kyslíku
TBI	traumatické poranění mozku
Th1/Th2	pomocné T lymfocyty
Δ <sup>9</sup> -THC	Δ <sup>9</sup> -tetrahydrokanabinol
THP-1	buňky leukemické buněčné linie
TNF-α	faktor nádorové nekrózy α
TRPV1	„Transient receptor potential“ iontový kanál
WIN 55,212-2	agonista CB1 receptoru, syntetický kanabinoid

# 1. ÚVOD

Konopí seté (*Cannabis sativa*) je rostlina, která se pěstuje po tisíciletí hlavně v centrální Asii, kde je využívána pro svoje psychotropní a léčebné účinky, ale také pro výrobu textilu z konopného vlákna (Russo et al. 2008). I přes rozšíření používání konopí do celého světa bylo chemické složení látek objeveno až ve druhé polovině 20. století, čímž se odstartoval výzkum konkrétních mechanismů, jejichž prostřednictvím tyto látky působí. V konopí se vyskytuje okolo 100 druhů různých fytoKANABINOIDŮ jako sekundárních metabolitů, hlavními z nich jsou  $\Delta^9$ -tetrahydroKANABINOL, KANABIDIOL a KANABIOL. Další látky působící na KANABINOIDNÍ signalizaci jsou endogenní KANABINOIDY – anandamid a 2-arachidonoylglycerol, které se přirozeně vyskytují v lidském těle (Devane et al. 1992). V současnosti jsou definované dva KANABINOIDNÍ receptory, CB1 a CB2, které patří do skupiny receptorů spřažených s G proteiny (GPCRs) a vyskytují se v centrální i periferní nervové soustavě. Studium KANABINOIDNÍHO systému bylo zjištěno, že KANABINOIDY mohou modulovat některé buněčné procesy skrze inhibici adenylátcyklázy, aktivaci MAP kinázy nebo modulaci vnitrobuněčné koncentrace  $\text{Ca}^{2+}$  iontů.

Cílem této práce je popsat fungování KANABINOIDNÍHO systému, jaké ligandy do něj spadají, přes jaké receptory působí a na jaké signální dráhy mají vliv. Dále je cílem popis neuroprotektivních mechanismů, které mohou KANABINOIDY modulovat, a jak se dají využít k léčbě neurodegenerativních onemocnění jako Alzheimerova choroba, roztroušená skleróza, Parkinsonova choroba, epilepsie a traumatické poranění mozku.

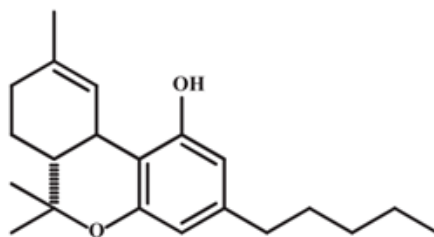
## 2. LIGANDY KANABINOIDNÍCH RECEPTORŮ

### 2.1. $\Delta^9$ -TETRAHYDROKANABINOL

$\Delta^9$ -THC (obr. 1) má strukturu tricyklického dibenzopyranu a také se řadí mezi terpeny (Gaoni & Mechoulam 1964).  $\Delta^9$ -THC bylo poprvé izolováno z rostliny *Cannabis sativa* v roce 1964 a za další tři roky bylo laboratorně syntetizováno (Mechoulam et al. 1967). Jde o hlavní psychoaktivní látku konopí. Díky své lipidické struktuře a aromaticitě má silně lipofilní vlastnosti, díky nimž je velmi špatně rozpustná ve vodě a dobře rozpustná v organických rozpouštědlech, například v alkoholech a lipidech.



$\Delta^9$ -THC se vyskytuje hlavně jako tetrahydrokanabinolová kyselina. Biosyntéza kanabinoidů začíná alkylací olivetolové kyseliny s geranyldifosfátem za tvorby kanabigerolové kyseliny, z té poté může vznikat  $\Delta^9$ -THC, CBD, CNB a jiné kanabinoidy pomocí specifických syntetáz a následné dekarboxylace (Fellermeier & Zenk 1998).



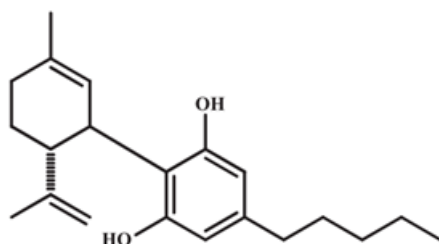
Obr. 1.: Strukturní vzorec  $\Delta^9$ -tetrahydrokanabinolu (převzato z (Mechoulam & Parker 2013))

$\Delta^9$ -THC působí na oba známé kanabinoidní receptory jako jejich částečný agonista. Jeho působení na CB1 receptor způsobuje psychoaktivní efekt a působení na CB2 má vliv na imunitní a protizánětlivou reakci. Svým navázáním na receptor brání v navázání anandamidu a 2-arachidonoylglycerolu (Pertwee 2006). Psychoaktivní efekt  $\Delta^9$ -THC je zapříčiněn hlavně snížením koncentrace sekundárního posla cAMP pomocí inhibice adenylátcyklázy, k čemuž dochází po aktivaci kanabinoidních receptorů (Howlett & Fleming 1984). Zatím se na trhu vyskytují léčiva jako Dronabinol nebo Sativex, které obsahují  $\Delta^9$ -THC jako aktivní léčivou látku.

## 2.2. KANABINOL

Další kanabinoidní látkou, která se nachází v konopí, avšak jen v malém množství, je kanabinol (CBN). Tento slabě psychoaktivní kanabinoid (Karniol et al. 1975) není na rozdíl od jiných kanabinoidů tvořen přímo z kanabigerolu nebo kanabigerolové kyseliny, ale degradací produktu tetrahydrokanabinolové kyseliny v přítomnosti kyslíku (McCallum et al. 1974). CBN má v porovnání s  $\Delta^9$ -THC velmi malou afinitu ke kanabinoidním receptorům, má větší afinitu k CB2 receptorům než k CB1 a působí na ně jako částečný agonista (Felder et al. 1995).

## 2.3. KANABIDIOL



Obr. 2.: Strukturní vzorec kanabidiolu (převzato z (Mechoulam & Parker 2013))

Ve 30. letech 20. století byl poprvé izolován další relevantní fytokanabinoid kanabidiol (CBD) (obr. 2), ale k objasnění jeho struktury došlo až v roce 1963 (Mechoulam & Shvo 1963). Kanabidiol má velmi nízkou afinitu k oběma kanabinoidním receptorům (Devane et al. 1988). Na CB1 receptory působí jako nekompetitivní antagonist a na CB2 jako inverzní agonista (Thomas et al. 2007, Pertwee 2008). Dále má vliv i na receptory, které nepatří do endokanabinoidního systému, například na vaniloidní receptor TRPV1 působí jako agonista. Způsobuje inhibici zpětného vychytávání anandamidu a jeho degradaci tím, že s ním kompetuje o vazebné místo na jeho transportéru (Bisogno et al. 2001).

CBD není psychoaktivní látka (Hollister 1973), avšak má anxiolytický efekt (Crippa et al. 2010). Na rozdíl od  $\Delta^9$ -THC u něj nebyly sledovány žádné významné dopady na lidské zdraví, čímž se stává zajímavým cílem pro další výzkum (Bhattacharyya et al. 2010).

## 2.4. ENDOGENNÍ KANABINOIDY

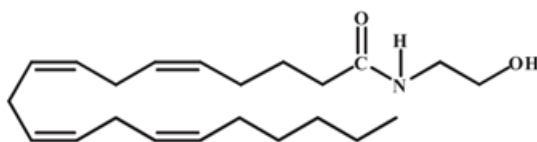
Endogenní kanabinoidy patří mezi eikosanoidy, které nejsou uchovávány ve vezikulech, ale jsou v případě potřeby syntetizovány a snadno procházejí lipidickou membránou (Di Pasquale et al. 2009). Tyto molekuly mají presynaptickou funkci, fungují jako rychlé retrográdní synaptické přenašeče (Howlett et al. 2002). Jelikož jsou hydrofobní, pro jejich difuzi hydrofilním cytosolem existují transportní proteiny, které fungují jako nosiče a pomáhají je solubilizovat a transportovat. Mezi tyto transportní proteiny patří heat shock proteiny (Hsp70s) a proteiny vázající mastné kyseliny pro anandamid (FABPs) (Kaczocha et al. 2009). Na FABPs se může vázat  $\Delta^9$ -THC nebo CBD (Elmes et al. 2015). FABs se tak řadí mezi látky nazývané endokanabinoidní

„zesilovače“ (enhancers), které zvyšují aktivitu endokanabinoidního systému tím, že zvyšují koncentraci endokanabinoidů v buňce. Tyto látky mohou působit například jako inhibitory endokanabinoidních transporterů nebo degradačních enzymů endokanabinoidů (amidhydrolázy mastných kyselin a monoacylglycerolipázy) a jsou to nepřímí agonisté endokanabinoidních receptorů (Di Marzo 2008).

#### 2.4.1. ANANDAMID

V roce 1992 byl z prasečího mozku izolován první endogenní kanabinoid N-arachidonylethanolamin (anandamid) (obr. 3) (Devane et al. 1992). V organismu se tvoří dvoustupňově z N-arachidonoylfosfatidylethanolaminu v transacylačně fosfodiesterové dráze (Schmid & Berdyshev 2002, Sugiura et al. 2002) a je oproti  $\Delta^9$ -THC (který se rozkládá nebo ukládá) rychle odbouráván hydrolýzou pomocí enzymu amidhydrolázy mastných kyselin (FAAH) na arachinovou kyselinu a ethanolamin. Anandamid je prekurzor skupiny fyziologicky aktivních látek prostamidů (Kozak et al. 2002).

Anandamid má efekt na centrální i periferní nervovou soustavu. Na CNS působí prostřednictvím CB1 receptoru a na periferní nervovou soustavu prostřednictvím CB2 receptoru. Anandamid má zejména vliv na snížení výlevu neurotransmiterů, čehož dosahuje různým způsobem, například prostřednictvím presynaptické inhibice napěťové řízených vápníkových kanálů (Mackie et al. 1995), cAMP signalizace (Vogel et al. 1993) a dále aktivací  $K^+$  kanálů (McAllister et al. 1999).

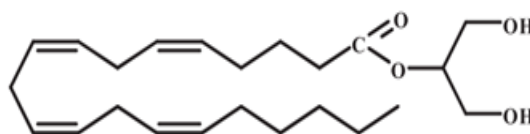


Obr. 3.: Strukturní vzorec anandamidu (převzato z (Mechoulam & Parker 2013))

#### 2.4.2. 2-ARACHIDONOYLGLYCEROL

2-arachidonoylglycerol (2-AG) (obr. 4) byl objeven v roce 1994 a poprvé izolován z psího tenkého střeva v roce 1995 (Mechoulam et al. 1995). Je to ester tvořený z omega-6 mastné kyseliny, arachidonové kyseliny a glycerolu. Tvorba 2-AG je závislá na vápníku a je zprostředkována pomocí fosfolipázy C (PLC) a diacylglycerolové lipázy (DAGL). Je odbouráván hydrolýzou pomocí FAAH nebo monoacylglycerolové lipázy (MAGL) na arachidonovou kyselinu a glycerol (Sugiura et al. 2002). Je to jeden z nejvíce se vyskytujících typů monoacylglycerolů v mozku myši a potkanů, nachází se v něm v několikanásobně vyšší koncentraci než anandamid (Stella et al. 1997, Kondo et al. 1998).

2-AG působí jako agonista na postsynaptické kanabinoidní receptory. Je to hlavní endogenní ligand pro CB2 receptor, pomocí kterého může vyvolávat protizánětlivý účinek (Sugiura et al. 2000, Maresz et al. 2007).



Obr. 4.: Strukturní vzorec 2-AG (převzato z (Mechoulam & Parker 2013))

### 3. RECEPTORY

Momentálně jsou popsány dva kanabinoidní receptory, CB1 a CB2, které jsou součástí nejpočetnější skupiny receptorů GPCRs – receptorů spřažených s G proteiny. Za potenciální třetí kanabinoidní receptor spřažený s G-proteiny se považuje GPR55. Existují však i receptory jiného typu, na které mají kanabinoidy schopnost se vázat, jako je například vaniloidní receptor 1 (TRPV1) nebo receptory aktivované peroxizómovými proliferátory (PPAR $\gamma$ ). Vazebná místa pro kanabinoidy se vyskytují v centrální i periferní nervové soustavě.

### 3.1. CB1 RECEPTOR

CB1 kanabinoidní receptor byl objeven na základě své odpovědi na  $\Delta^9$ -THC (Devane et al. 1988) a následně byl naklonován (Matsuda et al. 1990). Výskyt CB1 receptoru byl stanoven použitím kvantitativní autoradiografie, in situ hybridizace a imunocytochemie. Nachází se v mozkové kůře, hipokampu, bazálních gangliích, mozečku, slezině, plicích, brzlíku a v kardiovaskulárním systému (Herkenham et al. 1991). Dále se vyskytuje v lymfatických uzlinách, kostní dřeni, vaječníku, děloze, prostatě, nadledvinách a ve varlatech (Gérard et al. 1991, Galiègue et al. 1995). CB1 je přítomen během embryonálního vývoje, ale jeho množství se až do adolescence zvyšuje (Fride et al. 2009). Vyskytuje se na synapsích, které obsahují neurotransmitery GABA a glutamát, takže může regulovat jejich výlev (Hájos et al. 2000).

K interakci agonistů s receptorem dochází v jeho transmembránové oblasti, tři cytosolické smyčky receptoru se pak podílejí na aktivaci G proteinů. Proximální intracelulární C-terminální doména je důležitá pro spřažení s G proteiny a distální C-terminální doména pro rozsah a kinetiku přenosu signálu (Nie & Lewis 2001). Nedávno byla představena krystalická struktura lidského CB1 receptoru s vysokým rozlišením, což může pomoci k objasnění mechanismu fungování tohoto receptoru a k vývoji modulátorů kanabinoidního systému pro terapeutické účely (Shao et al. 2017).

Po své aktivaci CB1 receptor účinkuje hlavně skrze aktivaci  $G_i/o$  proteinu, která způsobuje inhibici produkce enzymu adenylátcyklázy, což vede ke snížení intracelulární koncentrace cAMP (Vogel et al. 1993). Může být ale spřažený i s  $G_s$  proteiny, a tím pádem zvyšovat jeho produkci (Bonhaus et al. 1998). Dále zvyšuje expresi MAP kinázy, a toto vše má vliv na růst neuronů, synaptickou plasticitu a migraci buněk (Bouaboula, et al. 1995b).

### 3.2. CB2 RECEPTOR

Výzkumný tým z Cambridge naklonoval CB2 receptor v roce 1993 pomocí polymerázové řetězové reakce (PCR). Tou dokázal přítomnost mRNA, kódující kanabinoidní receptor v buňkách HL60 a v potkaních monocitech. Lidský CB2 receptor obsahuje asi 360

aminokyselin, na rozdíl od CB1 receptoru, který jich má 473. Lidské CB1 a CB2 receptory si jsou podobné ve složení aminokyselin přibližně z 44% (Munro et al. 1993).

Krystalická struktura CB2 receptoru byla představena teprve nedávno. Má podobnou velikost a oblasti, které interagují s ligandem jako vazebné místo pro agonisty na CB1 receptoru, ale vazebné místo pro antagonisty na CB2 receptoru je menší, čímž se vysvětluje výskyt vysoké selekce CB1 a CB2 mezi antagonisty kanabinoidních receptorů. Dále to může být důvodem, proč byli nalezeni dva strukturálně odlišní CB2 agonisté, kteří jsou zároveň CB1 částeční agonisté. CB2 antagonisté nevyvolávají neuropsychiatrické vedlejší účinky jako CB1 antagonisté díky svému nedostatku CB1 antagonistické aktivity (Li et al. 2019).

CB2 receptory se nacházejí v hematopoetických buňkách, slezině, mandlích, kostní dřeni, leukocytech, mozku, cerebrovaskulárních endotelových buňkách, mikrogliích a v neuronech v postsynaptických oblastech. V imunitním systému jsou především zodpovědné za zprostředkování výlevu cytokinů. Jsou lokalizovány hlavně na monocytech, makrofázích, B-lymfocytech a T-lymfocytech. CB2 receptory se také nacházejí v gastrointestinálním traktu, kde zprostředkovávají střevní zánětlivou odpověď. Vyskytují se i v mozku, ovšem v menším množství a na jiném typu buněk než CB1 receptor (Onaivi 2007). Například jsou exprimovány v hipokampu, kde mají vliv na hyperpolarizaci buněk (Stempel et al. 2017).

Aktivace CB2 receptoru má protektivní efekt. V gliových buňkách, zejména v mikrogliích, je exprimován hlavně v přítomnosti zánětu, například při neurodegenerativních onemocněních. Nezpůsobuje psychotropní efekt jako CB1 a je velmi inducibilní. Jeho agonisté mohou modifikovat opioidní toleranci a centrum odměn, jejich působením na CB2 se snižuje inflamace a obnovuje se normální funkce mikroglií (Klegeris et al. 2003).

CB2 receptory aktivují pomocí G $\beta\gamma$  podjednotky MAPK-ERK kaskádu, která reguluje například vstup do buněčného cyklu nebo způsobuje migraci buněk (Bouaboula et al. 1996).

### 3.3. NON-CB RECEPTORY

#### 3.3.1. TRPV1

TRPV1 je nespecifický iontový kanál vyskytující se hlavně v senzoryckých neuronech, který slouží k detekci a regulaci teploty a nocicepci. Vyskytuje se ale i v CNS a na jiných místech, často na stejných buňkách jako kanabinoidní receptory, a jeho odpověď je závislá na typu tkání a buněk (Tóth et al. 2005). Aktivují ho oba hlavní endokanabinoidy (Zygmunt et al. 1999). Jeho činnost je úzce spjatá s anandamidem, aktivace tohoto receptoru způsobuje zvýšení syntézy anandamidu a metabolity anandamidu ovlivňují jeho odpověď. Pro aktivaci tohoto receptoru je potřeba větší množství anandamidu (0,5-10  $\mu$ M). Při malé koncentraci anandamidu dojde aktivací CB1 a snížením aktivity TRPV1 k analgetickému účinku, ale naopak vyšší koncentrace v případě zánětu vede k pocitům bolesti (Tognetto et al. 2001).

#### 3.3.2. PPAR $\gamma$

PPAR $\gamma$  jsou jaderné receptory aktivované peroxizómovými proliferátory, které fungují jako transkripční faktory a podílejí se na řízení metabolismu, buněčné diferenciaci a apoptóze. PPAR $\gamma$  se vyskytují v tukové tkáni v adipocytech a v makrofázích. Jejich hlavní funkcí je regulace zásob mastných kyselin a metabolismu glukózy. Anandamid indukuje skze PPAR $\gamma$  adipocytovou diferenciaci a aplikace  $\Delta^9$ -THC způsobuje vazorelaxaci (Bouaboula et al. 2005, O'Sullivan et al. 2005).

#### 3.3.3. GPR55

Je to receptor spřažený s G proteiny modulovaný endogenními i rostlinnými kanabinoidy. Anandamid, 2-AG a  $\Delta^9$ -THC jsou jeho agonisté a kanabidiol je jeho antagonist (Ryberg et al. 2007). Vyskytuje se v mozku, slezině, střevě a v nadledvinkách. Tvoří heteromery s CB1 i s CB2 receptory, takže mohou navzájem ovlivňovat svoji aktivitu (Kargl et al. 2012, Balenga et al. 2014). Svojí aktivací spouští G $\alpha$ 12/13 signalizační kaskádu. Aktivace tohoto receptoru hraje roli v regulaci zánětu, a tím pádem představuje potenciální cíl pro léčivé látky (Staton et al. 2008).

## 4. SIGNALIZACE

### 4.1. ADENYLÁTCYKLÁZA

Poprvé byl inhibiční efekt kanabinoidů na adenylátcyklázu dokázán v roce 1984 použitím mikromolárních koncentrací  $\Delta^9$ -THC v buňkách neuroblastomu (Howlett & Fleming 1984). Bylo dokázáno, že v této signalizaci pravděpodobně hrají roli Gi/o proteiny (Howlett et al. 1986).

Produkt enzymatické reakce katalyzované adenylátcyklázou je cyklický AMP (cAMP), který je důležitý pro několik podstatných fyziologických buněčných funkcí, jako je buněčný růst, diferenciace buněk, transkripční regulace a apoptóza. Inhibice cAMP pomocí kanabinoidů byla ukázána na řezech potkaního hipokampu, striata, mozkové kůry a mozečku (Howlett et al. 1990). K inhibici adenylátcyklázy dochází v oblasti mozku, kde se vyskytuje nejvíce vazebných míst pro kanabinoidy. Ovlivněním vnitrobuněčné koncentrace cAMP dochází k fosforylaci protein kinázou A (PKA), což je důležité pro modulaci odpovědi na ionotropní neurotransmitery (Deadwyler et al. 1995, Hampson et al. 1995).

Aktivace CB2 receptoru pomocí HU-210 inhibovala aktivitu adenylátcyklázy a tato inhibice je citlivá na *pertussis toxin* (PTX), což naznačuje, že tento receptor je spřažen s Gi/o proteinem. Tento efekt však není modulován anandamidem ani  $\Delta^9$ -THC na rozdíl od CB1 receptorů (Bayewitch et al. 1995). Dalším možným mechanismem modulace adenylátcyklázy je spřažení s Gs proteiny. Působením agonistů CB1 receptorů HU-210 a CP 55,940 na CHO buňky (buněčná linie derivovaná z buněk vaječníku čínské křečka) došlo ke stimulaci akumulace cAMP, tento efekt ale nevykazují CB2 receptory (Glass & Felder 1997).

Bylo identifikováno 10 různých izoenzymů adenylátcyklázy, které byly rozděleny do 6 skupin na základě jejich sekvence a funkční podobnosti. Jejich různorodost může být důvodem, proč kanabinoidní receptory vykazují protichůdné působení na aktivitu adenylátcyklázy v odlišných buněčných preparátech. Dalším vysvětlením může být jejich duální vazba ke Gs i Gi/o proteinům. Skoro každá buňka exprimuje více izoform adenylátcyklázy, takže je těžké provést biochemickou charakterizaci různých izoenzymů a určit, jakou specifickou fyziologickou aktivitu mají jednotlivé izoformy v buňkách, tkáních a v organismech (Patel et al. 2001).



## 4.2. MAP KINÁZA

MAP kinázová kaskáda je klíčový signalizační mechanismus, který reguluje mnoho buněčných funkcí, jako je buněčný růst, buněčná transformace a apoptóza. Aktivace MAP kináz je obvykle asociována s prvotní aktivací tyrosinkinázového receptoru. Ten aktivuje intracelulární G protein Ras a nastartuje signalizační kaskádu počínající aktivací serin/threonin kinázy Raf (MAP3K). Raf aktivuje MAP kinázu kinázu (MAP2K), což vede k fosforylaci a aktivaci MAP kinázy, která může fosforylovat různé cytoplazmatické a jaderné proteiny.

Aktivace MAP kinázy byla dokázána na kultivovaných lidských astrocytech a CHO buňkách, které exprimují CB1 receptory s použitím agonistů HU-210 a CP 55,940 (Bouaboula et al. 1995a). Studie na kulturách potkaních astrocytů ukázaly, že  $\Delta^9$ -THC a HU-210 zvýšily metabolismus glukózy, metabolismus fosfolipidů a syntézu glykogenu pomocí aktivace MAP kinázy (Sánchez et al. 1998).

Aktivace MAP kinázy může být spojena s expresí genů časně odpovědi, jak bylo ukázáno pomocí exprese přes CB1 receptor genu krox-24 v buňkách lidského astrocytomu (Bouaboula et al. 1995a) a také na myším hipokampu, kde  $\Delta^9$ -THC indukovalo expresi genů časně odpovědi krox-24, BDNF a c-Fos protein, čemuž bylo zabráněno inhibicí MAP kinázy. BDNF a krox-24 jsou zvláště důležité v synaptické plasticitě, což značí, že genová regulace pomocí aktivace MAP kinázy je důležitým fyziologickým mechanismem, jakým mohou kanabinoidy modulovat synaptickou plasticitu (Derkinderen et al. 2003).

Stimulace CB1 receptoru může také regulovat MAP kinázovou aktivitu nepřímo pomocí jejího vlivu na akumulaci cAMP. Snížení koncentrace cAMP a následné snížení v PKA aktivitě může hrát roli ve stimulačním efektu aktivace CB1 na MAP kinázovou kaskádu (Davis et al. 2003).

### 4.3. IONTOVÉ KANÁLY

Ukázalo se, že aktivace CB1 receptorů a následná inhibice vápníkových kanálů na presynaptických zakončeních, která obsahují acetylcholin, GABA, glutamát nebo noradrenalin, vedly ke snížení výlevu těchto neurotransmiterů. Fyziologický efekt závisí na tom, jaký typ buněk je touto inhibicí ovlivněn. Modulace napěťově ovládaných iontových kanálů například  $\text{Ca}^{2+}$  kanálů N–a P/Q-typu a  $\text{K}^+$  kanálů A-typu je základem pro kanabinoidní inhibici výlevu neurotransmiterů v presynaptických oblastech. Tento efekt je většinou zprostředkovaný CB1 receptory, ale existují důkazy, že kanabinoidy modulují funkci iontových kanálů přímo, bez kanabinoidních receptorů.

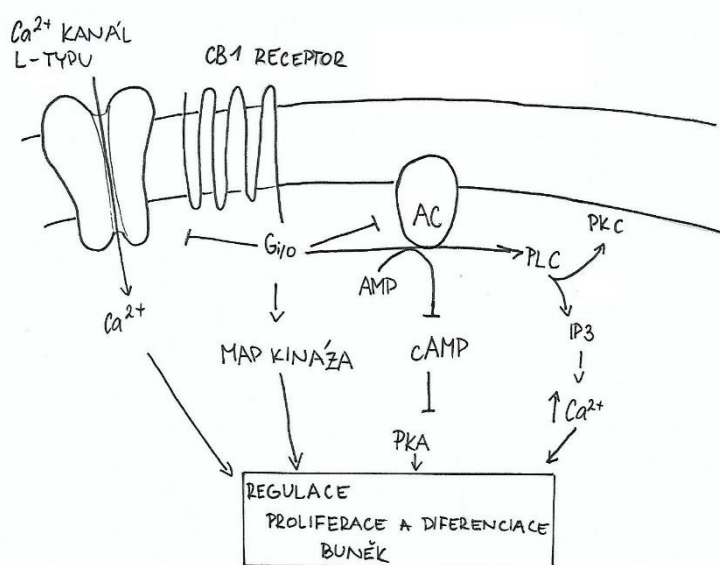
Anandamid působí jako úplný agonista v inhibici  $\text{Ca}^{2+}$  kanálů typu Q v buňkách hypofýzy exprimujících CB1 receptory (Mackie et al. 1995). Dále inhibuje  $\text{Ca}^{2+}$  kanály P/Q-typu, což bylo detekováno pomocí fluorescence na řezech potkaní mozkové kůry a mozečku (Hampson et al. 1998). Anandamid má dále vliv na napětím ovládané  $\text{Ca}^{2+}$  kanály N-typu v diferencovaných buňkách neuroblastomu (Caulfield & Brown 1992). A rovněž inhiboval  $\text{Ca}^{2+}$  kanály L-typu v arteriálních buňkách hladké svaloviny v mozku koček, které exprimovaly mRNA pro CB1 receptor, což mělo za efekt vazorelaxaci (Gebremedhin et al. 1999). AEA má vliv i na CB1 receptory napojené na Kir (dovnitř usměrňující draslíkové kanály) v nádorových buňkách hypofýzy (Mackie et al. 1995), ale například v modelu žabích oocytů působí jako částečný agonista pro GIRK kanály (Hampson et al. 1998).

Všechny tyto dráhy jsou citlivé na PTX, což indikuje, že odpověď je zprostředkovaná Gi/o proteiny skrze CB1 receptory. Je ale možné, že k aktivaci dochází i nezávisle na kanabinoidních receptorech, jak bylo ukázáno na potkaních myocytech levé srdeční komory, kde anandamid inhiboval funkci napěťově ovládaných  $\text{Na}^+$  a  $\text{Ca}^{2+}$  kanálů L-typu nezávisle na kanabinoidních receptorech (Al Kury et al. 2014).

## 4.4. MODULACE $\text{Ca}^{2+}$ IONTŮ

Obecně dochází ke zvýšení  $\text{Ca}^{2+}$  uvnitř buněk po stimulaci CB1 receptoru v mnoha typech buněk včetně neuronů. Zvýšení množství vnitrobuněčného  $\text{Ca}^{2+}$  bylo pozorováno například v buňkách neuroblastomu jako odpověď na 2-arachidonoylglycerol a 1(3)-arachidonoylglycerol a také na kultuře granulárních buněk mozečku nebo na telecích endotelových buňkách, kde byla stimulace CB1 receptoru spojena s aktivací PLC skrze  $\text{Gi/o}$  proteiny, čímž došlo ke zvýšení množství  $\text{IP}_3$ , který indukuje výlev  $\text{Ca}^{2+}$  z vnitřních zásob (Sugiura et al. 1997a, Sugiura et al. 1997b, Zoratti et al. 2003) (obr. 5.).

Toto se zdá být v rozporu s kanabinoidní inhibicí napěťově ovládaných vápníkových kanálů a může to být způsobeno tím, že je buňka rozdělená do kompartmentů.



Obr. 5.: Zjednodušené schéma kanabinoidní signalizace (upraveno podle (Zou & Kumar 2018))

## 5. NEUROPROTEKTIVNÍ MECHANISMY KANABINOIDŮ

### 5.1. OCHRANA PROTI ISCHEMII

Ischemií se nazývá nedokrvenost tkání, která vede k buněčné smrti. Dochází k ní po cévní mozkové příhodě, po infarktu nebo po traumatickém poranění mozku. Nedostatek kyslíku a

glukózy způsobí poruchu tvorby ATP, což má za následek poruchu funkce kanálů na něm závislých a buňky se depolarizují. Tím dochází ke vtoku většího množství  $\text{Ca}^{2+}$  iontů do buněk a následnému výlevu glutamátu. Glutamát stimuluje AMPA receptory a NMDA receptory a způsobuje ještě větší vtok  $\text{Ca}^{2+}$  iontů do buňky, díky čemuž dochází k nadměrné excitaci buněk. Tento proces se nazývá glutamátová excitotoxicita. Takový nárůst aktivity může poškozovat neurony, vést k aktivaci apoptózy a zánětlivých kaskád a také k narušení metabolických procesů, což vede k buněčné smrti (Ankarcrona et al. 1995).

Ukazuje se, že agonisté kanabinoidních receptorů mohou proti glutamátové excitotoxicitě poskytovat ochranu. V roce 1998 se zjistilo, že glutamátový synaptický přenos v potkaní hipokampální kultuře může být inhibován agonisty kanabinoidních receptorů. Agonista CB1 receptorů Win55212–2 zabránil buněčné smrti blokací nárůstu  $\text{Ca}^{2+}$  iontů uvnitř buněk, k tomuto efektu však nedošlo při přímém podání glutamátu do buněk (Shen & Thayer 1998). V in vivo modelu neurodegenerace  $\Delta^9$ -THC snížil poškození neuronů pomocí CB1 receptorů v akutní fázi i v pozdní fázi excitotoxicity indukované oubainem (van der Stelt et al. 2001). V jiné studii docházelo v mutantních myších bez exprimovaného CB1 receptoru k záchvatům po administraci kyseliny kainové (KA), ale u myší s exprimovanými CB1 receptory se zvýšila hladina anandamidu a dostavily se neuroprotektivní mechanismy, což naznačuje, že aktivace CB1 receptoru endogenními ligandy podporuje přežití neuronů během excitotoxicity (Marsicano et al. 2003). Dále se zvýšením hladiny anandamidu pomocí inhibitoru amidhydrolázy mastných kyselin (FAAH) zmenšilo poškození buněk KA indukovanou excitotoxicitou (Naidoo et al. 2011). Také se ukázalo, že anandamid a 2-AG zvýšily životnost buněk, které byly vystaveny 8 hodinám hypoxie a nedostatku glukózy (Sinor et al. 2000).

## 5.2. OCHRANA PROTI NEUROINFLAMACI

Neuroinflamace je zánět nervové tkáně vyvolaný infekcí, poraněním, autoimunitní reakcí nebo toxiny. Dochází při ní k aktivaci rezidentních buněk, jako jsou neurony, mikroglie nebo astrocyty. Ty pak produkují proinflamační cytokiny a chemokiny, jako jsou například interleukin  $1\beta$  (IL- $1\beta$ ), interleukin 6 (IL-6) nebo faktor nádorové nekrózy  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) (Frei et al. 1987). Ty mohou způsobovat aktivaci apoptotických kaskád a poškození hematoencefalické bariéry, čímž do CNS proniknou periferní imunitní buňky (Larrick & Wright 1990, Blamire et al. 2000). Dále způsobují

aktivaci nukleárního faktoru  $\kappa B$  (NF- $\kappa B$ ), který reguluje proliferaci a zánětlivou odpověď buněk (Kaltschmidt et al. 1994), a také aktivují inducibilní NO syntázy (iNOS), které spolu s reaktivními formami kyslíku (ROS) způsobují apoptózu (Dubey et al. 2016).

CB2 receptor je exprimován na různých typech leukocytů a na makrofázích, díky čemuž může regulovat protizánětlivý účinek kanabinoidů. CB2 receptory se v menším množství vyskytují ve zdravém mozku, ale jejich exprese se během neuroinflamace drasticky zvýší, hlavně na mikrogliích a aktivovaných astrocytech (Benito et al., 2008). Také v mozkových tkáních pacientů s neurodegenerativními onemocněními byla pozorována zvýšená aktivace CB2 receptorů (Solas et al. 2013). Existují dva aktivační stavy mikroglií M1 a M2. V přítomnosti poškození se mikroglie transformují z klidových na aktivované, což má za cíl opravit poškozené buňky a odstranit patogeny a pozůstatky mrtvých buněk (Carayon et al. 1998, Carlisle et al. 2002). M1 stav je charakterizován výlevem prozánětlivých faktorů, jako jsou IL-1 $\beta$ , IL-6, iNOS a TNF- $\alpha$ , a M2 stav je spojován s výlevem protizánětlivých faktorů IL-10, IL-4, a NGF (Mecha et al. 2015).

Agonisté CB2 receptorů ovlivňují sekreci prozánětlivých látek. Bylo ukázáno, že agonisté CB2 receptorů inhibují sekreci prozánětlivých molekul IL-1 $\beta$  a TNF- $\alpha$  z THP-1 buněk (Klegeris et al. 2003). Agonista CB2 receptorů JWH-133 zvýšil sekreci protizánětlivých cytokinů IL-10 a inhiboval lipopolysacharidy-indukovanou aktivaci NF- $\kappa B$  kaskády, sekreci TNF- $\alpha$  a IL-1 $\beta$  (Louvet et al. 2011). Agonista CB2 receptoru paeoniflorin inhiboval expresi mediátorů M1 buněk a zvýšil expresi protizánětlivých cytokinů (Luo et al. 2018). Dále mělo  $\Delta^9$ -THC neuroprotektivní efekt inhibicí interferonu- $\gamma$ , zvýšením protizánětlivých Th2 lymfocytů a supresí prozánětlivých Th1 lymfocytů (Yuan et al. 2002).

Možný je i mechanismus spojený s CB1 receptory, duální agonista CB1/CB2 receptorů WIN-55212-2 inhiboval tvorbu iNOS a TNF- $\alpha$  (Fernández-López et al. 2006). Také anandamid blokoval syntézu TNF- $\alpha$ , zvýšil výlev protizánětlivých faktorů IL-4 a IL-10 z glií (Molina-Holgado et al. 1998) a inhibitor jeho vychytávání snížil výlev IL- $\beta$ , TNF- $\alpha$  a NO (Ortega-Gutiérrez et al. 2005). Předpokládá se, že  $\Delta^9$ -THC a anandamid však mohou působit na mikroglie i jiným mechanismem, jelikož dokázaly snížit množství IL-1 $\beta$ , IL-6 a TNF- $\alpha$  bez účasti kanabinoidních receptorů (Puffenbarger et al. 2000).

Z těchto studií vyplývá, že aktivace obou kanabinoidních receptorů moduluje výlev cytokinů, které jsou odpovědné za regulaci imunitních funkcí a zánětlivé odpovědi, což dělá kanabinoidní receptory zajímavým cílem pro vývoj léčiv pro neurodegenerativní onemocnění.

## 6. VÝZNAM KANABINOIDŮ V LÉČBĚ NEURODEGENERATIVNÍCH ONEMOCNĚNÍ

### 6.1. ALZHEIMEROVA CHOROBA

Jednou z nejčastějších forem demence je Alzheimerova choroba (AD). Jde o neurodegenerativní onemocnění mozku většinou spojené s pokročilým věkem, které je charakteristické vznikem amyloidních plaků, které se tvoří hromaděním různých fibrilárních beta amyloidů ( $A\beta$ ) vznikajících štěpením amyloidového prekurzorového proteinu (APP) a agregací hyperfosforylovaného proteinu Tau, čímž vznikají neurofibrilární klubka (Dickson et al. 1988, Liebscher & Meyer-Luehmann 2012, Gosselet et al. 2013). Amyloidní plaky jsou obklopeny dystrofickými axony, reaktivními astrocyty a mikroglie. Neurofibrilární klubka se nejprve objevují v čelním, spánkovém a týlním laloku mozkové kůry a dále se šíří do hipokampu a limbického systému a nakonec do celého telencephalonu (Braak & Braak 1991).

Základní znakem mozku postiženého Alzheimerovou chorobou je inflamace způsobená aktivovanými mikroglie v okolí amyloidních plaků. Ty uvolňují látky, které aktivují astrocyty a způsobují excitotoxicitu a tvorbu ROS. V raných fázích nemoci mají protizánětlivou funkci, ale nejsou schopny odstranit ani zabránit tvorbě amyloidních plaků a jejich funkce je amyloidem inhibována (Krabbe et al. 2013). Dále inflamaci způsobuje výlev glutamátu z neuronů a glií, který aktivuje NMDA receptory, což způsobuje patologické zvýšení intracelulární koncentrace  $Ca^{2+}$  iontů.  $A\beta$  je schopen tvořit póry v lipidové dvojvrstvě, kterými mohou procházet  $Ca^{2+}$  ionty, a tím se ještě více zvyšuje jejich intracelulární koncentrace. Takto zvýšená hladina  $Ca^{2+}$  iontů může vést k depolarizaci buňky, mitochondriální dysfunkci a tvorbě ROS (Kawahara & Kuroda 2000).

V mozku zasaženém AD je exprese proteinů CB1 receptorů a spřažení s G proteiny velmi snížené, zatímco množství CB2 receptorů je zvýšené hlavně na mikrogliích okolo amyloidních plaků (Benito et al. 2003, Ramirez et al. 2005, Solas et al. 2013). Podobně zvýšené množství CB2 receptorů bylo nalezeno i na zvířecích modelech AD mozku (Savonenko et al. 2015). Ukázalo se, že agonisté CB2 receptorů na zvířecích modelech AD redukuje poškození způsobené nemocí potlačením inflamace, usnadňuje odbourávání A $\beta$  pomocí aktivace fagocytického fenotypu mikroglií a redukuje hyperfosforylaci tau (Tolón et al. 2009, Aso et al. 2013). Funkčnost CB2 receptorů je alespoň částečně zachována v mozku poškozeném AD. CB2 receptory snižují neurotoxicitu snížením tvorby prozánětlivých molekul a modulací migrace makrofágů. Aktivita CB2 receptorů také usnadňuje transformaci mikroglií z M1 na M2 fenotyp, který vykonává fagocytózu a opravné mechanismy (Mecha et al. 2015). Bylo zjištěno, že aktivace CB1 receptorů zhoršuje poruchy paměti u potkanů (Van Der Stelt et al. 2006), takže blokáda CB1 receptorů se zvýšenou aktivací CB2 by mohla představovat případnou možnost léčby (Martín-Moreno et al. 2012).

Zatím byly provedeny převážně studie na zvířecích modelech, na člověku proběhla pouze jedna relevantní randomizovaná, dvojitě zaslepená, placebem kontrolovaná studie, kde bylo pacientům s demencí podáváno 4,5 mg  $\Delta^9$ -THC denně a nebyl zde zjištěn žádný pozitivní efekt na neuropsychiatrické symptomy (Van Den Elsen et al. 2015).

## 6.2. ROZTROUŠENÁ SKLERÓZA

Hlavními znaky roztroušené sklerózy jsou demyelinizace, ztráta axonů, inflamace a gliolýza (Compston & Coles 2002, Brück 2005). Častými symptomy nemoci jsou poruchy funkce močového měchýře, spasticita, únava a kognitivní poruchy (Lublin & Reingold 1996). Zasažena bývá šedá i bílá hmota mozková (Vosoughi and Freedman, 2010). Rozvoji nemoci napomáhá vrozená i získaná imunita, dochází k infiltraci aktivovaných buněk získané imunity např. TH1, TH17, CD8 $\beta$  T lymfocytů a B lymfocytů a buněk vrozené imunity např. makrofágů, NK buněk, dendritických buněk a gliových buněk (Gandhi et al. 2010). K infiltraci do CNS dochází skrze porušenou hematoencefalickou bariéru. Aktivace místních mikroglií, astrocytů a makrofágů způsobuje zvýšenou sekreci cytokinů, chemokinů a protilátek, a to má za následek poškození oligodendrocytů, axonů a demyelinizaci (Stone et al. 1995).

Experimentální autoimunní encefalomyelitida (EAE) je nejpoužívanější zvířecí model zánětlivých a autoimunitních onemocnění CNS, který je charakteristický demyelinizací (Gold et al. 2006). Průběh nemoci je porovnatelný s roztroušenou sklerózou u člověka, takže tento model pomohl vyvinout terapie, které se dnes používají v praxi. Patogeneze roztroušené sklerózy se na zvířecích modelech vyvolává pomocí virové demyelinizace (Tsunoda & Fujinami 2010).

Všechny imunitní buňky, které se účastní neuroinflamace, exprimují oba kanabinoidní receptory (Galiègue et al. 1995). U CB2-deficientních T lymfocytů docházelo k potlačení apoptózy, zvýšené proliferaci a zvýšené produkci zánětlivých cytokinů, z čehož vyplývá, že CB2 receptor hraje roli jako regulátor funkce CD4+ T-lymfocytů a inflamace v EAE (Maresz et al. 2007).  $\Delta^9$ -THC spolu s WIN55,212, agonistou CB2 receptoru JWH-133 a methanandamidem pomáhá proti spasticitě a tremoru u myší s EAE (Baker et al. 2000). Bylo ukázáno, že podání CBD snižuje závažnost EAE, snižuje poškození axonů, inflamaci, mikrogliální aktivaci a shlukování T lymfocytů v míše (Kozela et al. 2011).

Pacienti s roztroušenou sklerózou často používají konopí jako alternativní léčbu a předpokládá se, že látky v něm obsažené pomáhají ulevit od symptomů nemoci (Zajicek et al. 2003). V současnosti se v klinické praxi používá lék Sativex, což je kombinace 1:1  $\Delta^9$ -THC a CBD, který pomáhá proti spasticitě (Rekand 2014).

### 6.3. PARKINSONOVA CHOROBA

Hlavním znakem Parkinsonovy choroby (PD) je akumulace  $\alpha$ -synucleinu a následná ztráta dopaminergních neuronů v oblasti substantia nigra, která vede k porušení tvorby neurotransmiteru dopaminu a jeho funkce v bazálních gangliích. Způsobuje to, že pacient postupně ztrácí schopnost kontrolovat svůj pohyb. Neuroinflamace je jeden ze zásadních patologických faktorů, který má vliv na degeneraci dopaminergních neuronů v PD. V substantia nigra pacientů se nachází zvýšené množství aktivovaných mikroglií oproti zdravým jedincům. PD je charakterizována třesem končetin, ztuhlostí svalů, bradykinesíí a ztrátou schopnosti udržovat vzpřímený postoj (Cotzias et al. 1967, Spillantini et al. 1998). Ukládání  $\alpha$ -synucleinu je spojeno s aktivací mikroglií a astrocytů, což spouští imunitní a prozánětlivou odpověď, která je zodpovědná za proces neurodegenerace.



Farmakologická aktivace CB2 receptorů na mikroglíích a astrocytech pomocí CB2 agonistů způsobuje supresi výlevu prozánětlivých cytokinů a zvýšení protizánětlivých látek (Molina-Holgado et al. 2003, Ehrhart et al. 2005). Aktivace CB2 receptorů snížila inflamaci a zabránila odumírání neuronů na myším modelu PD, a to pravděpodobně díky snížené aktivaci astrocytů a mikroglíí a sníženému oxidativnímu stresu ve striatu (Ternianov et al. 2012). V myších modelech PD agonista CB1 receptorů WIN55,212-2 ochránil dopaminergní neurony (Price et al. 2009) a antagonist CB1 receptorů SR141716A byl schopen zmírnění hypokinesie. Agonisté CB1 receptorů se považují za potencionálně užitečnou terapii PD kvůli zvýšené aktivitě CB1 receptorů v bazálních gangliích a jejich působení na motoriku a na výlev neurotransmiteru (González et al. 2006).

Kontrolované klinické studie nezjistily žádný přínos kanabinoidů ke zlepšení motorických symptomů, ale u některých pacientů došlo ke zlepšení kvality života, což značí pozitivní efekt kanabinoidů na emoce (Carroll et al. 2004, Chagas et al. 2014). Avšak v jedné randomizované, dvojité zaslepené, placebem kontrolované klinické studii bylo ukázáno, že nabilon (CB1 a CB2 agonista) pomáhá s dyskinesií způsobenou jako vedlejší účinek léku levodopa, který se primárně používá k léčbě Parkinsonovy choroby (Sieradzan et al. 2001).

## 6.4. EPILEPSIE

Epilepsie je onemocnění mozku charakterizované dlouhodobou predispozicí vytvářet epileptické záchvaty. Epilepsii způsobuje náhlá krátkodobá porucha funkce neuronů, kdy dochází k redukci výlevu inhibičních neurotransmiterů GABA a glycinu. Epileptické záchvaty se dělí na fokální vycházející z jedné hemisféry, hlavně z oblastí temporálním laloku a hipokampu, které se nešíří do jiných oblastí, a generalizované záchvaty, které postihují obě hemisféry předního mozku (Fisher et al. 2014). Antiepileptická léčiva jsou cílena převážně na napětím ovládané Na<sup>+</sup> kanály, napětím ovládané Ca<sup>2+</sup> kanály a na neurotransmisi GABA a glutamátu. Často dochází k rezistenci na léky, takže se užívá kombinace několika typů léčiv ve vysokých dávkách (Rogawski & Löscher 2004).

Stimulace endokanabinoidní signalizace pomocí agonistů CB1 receptorů má antikonvulzivní efekt, oproti tomu inhibice tohoto systému skrze CB1 antagonisty vyvolává křeče v modelech záchvatů. Podle několika preklinických studií na zvířecích modelech záchvatů má regulace syntézy a degradace endokanabinoidů 2-AG a AEA a zpětného vychytávání AEA antikonvulzivní efekt (Wallace et al. 2001, Naderi et al. 2011, Naidoo et al. 2011). V modelu záchvatů indukovaných kyselinou kainovou měly endokanabinoidy neuroprotektivní účinky díky aktivaci presynaptických hipokampálních CB1 receptorů, které inhibovaly výlev glutamátu, a tím zabránily následné excitotoxicitě (Monory et al. 2006). Dále bylo zjištěno, že zvýšená exprese CB1 receptorů poskytuje ochranu před excitotoxicitou redukcí influxu  $\text{Ca}^{2+}$  iontů, inhibicí glutamerní transmise a inhibicí signálních kaskád (Guggenhuber et al. 2010). Kanabidiol a kanabidivarin se ukázaly být antikonvulzivní a dobře tolerované látky v preklinických studiích na zvířecích modelech záchvatů (Hill et al. 2012, Mao et al. 2015). Mechanismus jejich účinku pravděpodobně není přes CB1 a CB2 receptory, ale zdá se, že brání inhibici neurotransmiteru GABA (Consroe et al. 1982, Jones et al. 2012).

V otevřené intervenční studii bylo ukázáno, že kanabidiol může snižovat frekvenci záchvatů a jeho použití je bezpečné pro děti i dospělé (Devinsky et al. 2016). Zatím proběhly pouze dvě randomizované, dvojitě zaslepené, placebem kontrolované klinické studie, které se zaměřily na efekt kanabidiolu u Lennox-Gastautova syndromu, jehož pacienti měli rezistenci ke klasickým antiepileptickým lékům. Bylo ukázáno, že přidání kanabidiolu ke klasické léčbě snížilo frekvenci záchvatů více než placebo (Devinsky et al. 2018, Thiele et al. 2018).

## 6.5. TRAUMATICKÉ PORANĚNÍ MOZKU

Traumatická poranění mozku (TBI) jsou velice rozmanitá ve své závažnosti, příčinách a patologii. Jsou způsobena fyzickým poraněním mozku působením vnější mechanické síly, které má za následek akutní i opožděné patologické poškození. Prvotním poškozením je strukturální poškození mozkového parenchymu, které vzniká v okamžiku úrazu (Reilly et al. 1975). Sestává se z pohmoždění mozku, poškození cév, otoku mozku, lokalizovaného odumírání buněk a poškození axonů (Holbourn 1943, Adams et al. 1989). K sekundárnímu poškození dochází během několika minut po poranění, dochází k nekrotickému i apoptotickému odumírání buněk v zasažené oblasti, které trvá až několik měsíců (Siesjo & Siesjo 1996). Dále

dochází k vyjití excitačních aminokyselin do mezibuněčného prostoru, což způsobuje glutamátovou excitotoxicitu (Bullock et al. 1998). Influx vápenatých iontů do buněk způsobuje mitochondriální dysfunkci a vznik kyslíkových radikálů vedoucí k apoptóze (Sun et al. 2008). Také jsou aktivovány místní gliové buňky, mikroglie a dochází k přívodu makrofágů, produkci cytokinů, chemokinů a NO (Arand et al. 2001, Ahn et al. 2004).

Po traumatickém poranění v mozku dochází ke zvýšení množství endokanabinoidů, což poukazuje na jejich možnou roli v opravných mechanismech. Ukázalo se, že inhibitory hydrolýzy endokanabinoidů poskytují ochranu před buněčnou smrtí způsobenou TBI. Neurodegenerace byla snížena u myší pomocí agonisty CB2 receptoru JWH-133 a inhibice FAAH a MAGL (Amenta et al. 2014, Tchantchou et al. 2014, Zhang et al. 2015). Inhibitory FAAH dále způsobily zmenšení lézí a zvýšily expresi antiapoptotických molekul (Tchantchou et al. 2014). Podávání 2-AG zmenšilo závažnost neurologického poškození v myším modelu TBI, došlo ke snížení otoku mozku a úmrtnosti hipokampálních buněk (Panikashvili et al. 2001).

Také behaviorální změny po TBI, jako poruchy paměti, schopnosti učení a motoriky, mohou být zlepšeny díky manipulaci s endokanabinoidním systémem, jelikož po aplikaci agonisty CB1 receptoru do potkanů s poraněním mozku došlo ke zlepšení paměti a učení (Arain et al. 2015).

V současnosti patologie spojená s TBI nereaguje na žádná dostupná léčiva, takže je velký zájem o výzkum potenciálních signálních drah, na které by se mohla léčiva zaměřit (Meyer et al. 2010). V randomizované, dvojité zaslepené, placebem kontrolované klinické studii bylo ukázáno, že syntetický kanabinoid Dexamabinol, který je antagonist NMDA receptorů, není efektivní v léčbě TBI (Maas et al. 2006). Jiná studie se zaměřila na pacienty v kómatu po TBI, kterým podávali duálního agonistu CB1/CB2 receptorů KN38-7271, po prvním měsíci podávání docházelo ke zlepšení stavu pacientů, ale po 6 měsících již tento efekt nebyl pozorován (Firsching et al. 2012). V tříleté retrospektivní studii bylo ukázáno, že jedinci, kteří před utrpením TBI používali  $\Delta^9$ -THC, měli sníženou mortalitu, což značí, že tato látka má neuroprotektivní účinky (Nguyen et al. 2014).

## 7. ZÁVĚR

Kanabinoidní systém představuje zajímavý cíl pro vývoj léčiv proti neurodegenerativním onemocněním. Ukazuje se, že kanabinoidy mají velký potenciál v ochraně proti zánětu, avšak většina studií proběhla především v preklinické fázi, a tak je potřeba provést další výzkum pro objasnění jejich užitečnosti v léčbě. Již existující klinické studie ukázaly, že CBD snižuje frekvenci záchvatů u pacientů s epilepsií. Dále je v současné době v prodeji lék na bázi kanabinoidů Sativex, který se používá na neuropatickou bolest nebo spasticitu při roztroušené skleróze. Zajímavý je také fakt, že požití  $\Delta^9$ -THC po nějakou dobu před poraněním mozku, ochránilo mozkové buňky před odumřením.

Použití kanabinoidů se však v praxi stále setkává s negativním přijetím společnosti, kvůli psychotropním účinkům, které marihuana vyvolává. Nicméně nedávná legalizace marihuany v některých státech USA a v Kanadě zjednodušila dostupnost léků na bázi kanabinoidů. Stále je však použití kanabinoidů pro léčbu nemocí ve většině států omezováno legislativou.

## 8. SEZNAM POUŽITÉ LITERARTURY

- Adams J. H., Doyle D., Ford I., Gennarelli T. A., Graham D. I., & McLellan D. R. (1989): Diffuse axonal injury in head injury: Definition, diagnosis and grading. *Histopathology* 15: 49–59.
- Ahn M.-J., Sherwood E. R., Prough D. S., Yie Lin C., & DeWitt D. S. (2004): The Effects of Traumatic Brain Injury on Cerebral Blood Flow and Brain Tissue Nitric Oxide Levels and Cytokine Expression. *J. Neurotrauma* 21: 1431–1442.
- Amenta P. S., Jallo J. I., Tuma R. F., Craig Hooper D., & Elliott M. B. (2014): Cannabinoid receptor type-2 stimulation, blockade, and deletion alter the vascular inflammatory responses to traumatic brain injury. *J. Neuroinflammation* 11: 1–10.
- Ankarcrona M., Dypbukt J. M., Bonfoco E., Zhivotovsky B., Orrenius S., Lipton S. A., & Nicotera P. (1995): Glutamate-induced neuronal death: A succession of necrosis or apoptosis depending on mitochondrial function. *Neuron* 15: 961–973.
- Arain M., Khan M., Craig L., & Nakanishi S. T. (2015): Cannabinoid agonist rescues learning and memory after a traumatic brain injury. *Ann. Clin. Transl. Neurol.* 2: 289–294.
- Arand M., Melzner H., Kinzl L., Brückner U. B., & Gebhard F. (2001): Early inflammatory mediator response following isolated traumatic brain injury and other major trauma in humans. *Langenbeck's Arch. Surg.* 386: 241–248.
- Aso E., Juvés S., Maldonado R., & Ferrer I. (2013): CB2 cannabinoid receptor agonist ameliorates alzheimer-like phenotype in A $\beta$ PP/PS1 mice. *J. Alzheimer's Dis.* 35: 847–858.
- Baker D., Pryce G., Croxford J. L., Brown P., Pertwee R. G., Huffman J. W., & Layward L. (2000): Cannabinoids control spasticity and tremor in a multiple sclerosis model. *Nature* 404: 84–87.
- Balenga N. A., Martínez-Pinilla E., Kargl J., Schröder R., Peinhaupt M., Platzer W., Bálint Z., Zamarbide M., Dopeso-Reyes I. G., Ricobaraza A., Pérez-Ortiz J. M., Kostenis E., Waldhoer M., Heinemann A., & Franco R. (2014): Heteromerization of GPR55 and cannabinoid CB2 receptors modulates signalling. *Br. J. Pharmacol.* 171: 5387–5406.
- Bayewitch M., Avidor-Reiss T., Levy R., Barg J., Mechoulam R., & Vogel Z. (1995): The peripheral cannabinoid receptor: adenylate cyclase inhibition and G protein coupling. *FEBS Lett.* 375: 143–147.
- Benito C., Núñez E., Tolón R. M., Carrier E. J., Rábano A., Hillard C. J., & Romero J. (2003): Cannabinoid CB2 receptors and fatty acid amide hydrolase are selectively overexpressed in neuritic plaque-associated glia in Alzheimer's disease brains. *J. Neurosci.* 23: 11136–11141.
- Bhattacharyya S., Morrison P. D., Fusar-Poli P., Martin-Santos R., Borgwardt S., Winton-Brown T., Nosarti C., O'Carroll C. M., Seal M., Allen P., Mehta M. A., Stone J. M., Tunstall N., Giampietro V., Kapur S., Murray R. M., Zuardi A. W., Crippa J. A., Atakan Z., & McGuire P. K. (2010): Opposite effects of  $\delta$ -9-tetrahydrocannabinol and cannabidiol on human brain function and psychopathology. *Neuropsychopharmacology* 35: 764–774.
- Bisogno T., Petrocellis L. De, Mechoulam R., Hanuš L., Davis J. B., Marzo V. Di, Moriello A. S., Brandi I., Tchilibon S., & Ponde D. E. (2001): Molecular targets for cannabidiol and its synthetic analogues: effect on vanilloid VR1 receptors and on the cellular uptake and enzymatic hydrolysis of anandamide. *Br. J. Pharmacol.* 134: 845–852.

- Blamire A. M., Anthony D. C., Rajagopalan B., Sibson N. R., Perry V. H., & Styles P. (2000): Interleukin-1 $\beta$ -Induced Changes in Blood–Brain Barrier Permeability, Apparent Diffusion Coefficient, and Cerebral Blood Volume in the Rat Brain: A Magnetic Resonance Study. *J. Neurosci.* 20: 8153–8159.
- Bonhaus D. W., Chang L. K., Kwan J., & Martin G. R. (1998): Dual Activation and Inhibition of Adenylyl Cyclase by Cannabinoid Receptor Agonists : Evidence for Agonist-Specific Trafficking of Intracellular Responses. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 287: 884–888.
- Bouaboula M., Bourri   B., Rinaldi-Carmona M., Shire D., Fur G. Le, & Casellas P. Stimulation of cannabinoid receptor CB1 induces krox-24 expression in human astrocytoma cells. *Journal of Biological Chemistry.* 270: 13973–13980.
- Bouaboula M., Hilair  t S., Marchand J., Fajas L., Fur G. Le, & Casellas P. (2005): Anandamide induced PPAR   transcriptional activation and 3T3-L1 preadipocyte differentiation. *Eur. J. Pharmacol.* 517: 174–181.
- Bouaboula M., Poinot-chazel C., Bourriet B., Canat X., Calandra B., Rinaldi-carmona M., Fur G. L. E., & Casellas P. (1995): Activation of mapk by stimulation of the central cannabinoid receptor CB1. *Biochem. J.* 641: 637–641.
- Bouaboula M., Poinot-chazel C., Marchand J., Canat X., Bourrie B., Rinaldi-carmona M., Calandra B., Fur G. L. E., & Casellas P. (1996): Signaling pathway associated with stimulation of CB2 peripheral cannabinoid receptor Involvement of both mitogen-activated protein kinase and induction of Krox-24 expression. *FEBS Lett.* 711: 704–711.
- \* Braak H. & Braak E. (1991): Neuropathological staging of Alzheimer-related changes. *Acta Neuropathol.* 82: 239–259.
- Br  ck W. (2005): The pathology of multiple sclerosis is the result of focal inflammatory demyelination with axonal damage. *J. Neurol.* 252: 3–9.
- Bullock R., Ph D., Zauner A., Woodward J. J., Myseros J., Choi C., Ward J. D., Marmarou A., & Young H. F. (1998): Factors affecting excitatory amino acid release following severe human head injury. *J. Neurosurg.* 89: 507–518.
- Carayon P., Marchand J., Dussossoy D., Derocq J. M., Jbilo O., Bord A., Bouaboula M., Gali  gue S., Mond  iere P., P  narier G., Fur G. L., Defrance T., & Casellas P. (1998): Modulation and functional involvement of CB2 peripheral cannabinoid receptors during B-cell differentiation. *Blood* 92: 3605–3615.
- Carlisle S. J., Marciano-Cabral F., Staab A., Ludwick C., & Cabral G. A. (2002): Differential expression of the CB2 cannabinoid receptor by rodent macrophages and macrophage-like cells in relation to cell activation. *Int. Immunopharmacol.* 2: 69–82.
- Carroll C. B., Bain P. O., Teare L., Liu X., Joint C., Wroath C., Parkin S. G., Fox P., Wright D., Hobart J., & Zajicek J. P. (2004): Cannabis for dyskinesia in Parkinson disease: A randomized double-blind crossover study. *Neurology* 63: 1245–1250.
- Caulfield M. P. & Brown D. A. (1992): Cannabinoid receptor agonists inhibit Ca current in NG108–15 neuroblastoma cells via a Pertussis toxin-sensitive mechanism. *Br. J. Pharmacol.* 106: 231–232.
- Chagas M. H. N., Zuardi A. W., Tumas V., Pena-Pereira M. A., Sobreira E. T., Bergamaschi M. M., Santos A. C. Dos, Teixeira A. L., Hallak J. E. C., & Crippa J. A. S. (2014): Effects of cannabidiol in the treatment of patients with Parkinson’s disease: An exploratory double-blind trial. *J. Psychopharmacol.* 28: 1088–1092.

- \* Compston A. & Coles A. (2002): Multiple sclerosis. *Lancet* 359: 1221–1231.
- Consroe P., Benedito M. A. C., Leite J. R., Carlini E. A., & Mechoulam R. (1982): Effects of cannabidiol on behavioral seizures caused by convulsant drugs or current in mice. *Eur. J. Pharmacol.* 83: 293–298.
- Cotzias G. C., Woert M. H. Van, & Schiffer L. M. (1967): Aromatic amino acids and modification of parkinsonism. *New Englnd J. Med.* 276: 374–379.
- Crippa J. A. S., Derenusson G. N., Ferrari T. B., Wichert-Ana L., Duran F. L. S., Martin-Santos R., Simões M. V., Bhattacharyya S., Fusar-Poli P., Atakan Z., Filho A. S., Freitas-Ferrari M. C., McGuire P. K., Zuardi A. W., Busatto G. F., & Hallak J. E. C. (2010): Neural basis of anxiolytic effects of cannabidiol (CBD) in generalized social anxiety disorder: a preliminary report. *J. Psychopharmacol.* 25: 121–130.
- Davis M. I., Ronesi J., & Lovinger D. M. (2003): A predominant role for inhibition of the adenylate cyclase/protein kinase A pathway in ERK activation by cannabinoid receptor 1 in N1E-115 neuroblastoma cells. *J. Biol. Chem.* 278: 48973–48980.
- Deadwyler S. A., Hampson R. E., Mu J., Whyte A., & Childers S. (1995): Cannabinoids modulate voltage sensitive potassium A-current in hippocampal neurons via a cAMP-dependent process. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 273: 734–743.
- Derkinderen P., Valjent E., Toutant M., Corvol J.-C., Enslen H., Ledent C., Trzaskos J., Caboche J., & Girault J.-A. (2003): Regulation of extracellular signal-regulated kinase by cannabinoids in hippocampus. *J. Neurosci.* 23: 2371–2382.
- Devane W. A., Dysarz F. A., Johnson M. R., Melvin L. S., & Howlett A. C. (1988): Determination and characterization of a cannabinoid receptor in rat brain. *Mol. Pharmacol.* 34: 605–613.
- Devane W. A., Hanus L., Breuer A., Pertwee R. G., Stevenson L. A., Griffin G., Gibson D., Mandelbaum A., & Etinger A. (1992): Isolation and Structure of a Brain Constituent That Binds to the Cannabinoid Receptor. *Science* (80-. ). 258: 1946–1949.
- Devinsky O., Marsh E., Friedman D., Thiele E., Laux L., Sullivan J., Miller I., Flamini R., Wilfong A., Filloux F., Wong M., Tilton N., Bruno P., Bluvstein J., Hedlund J., Kamens R., Maclean J., Nangia S., Singhal N. S., Wilson C. A., Patel A., & Cilio M. R. (2016): Cannabidiol in patients with treatment-resistant epilepsy: an open-label interventional trial. *Lancet Neurol.* 15: 270–278.
- Devinsky O., Patel A. D., Cross J. H., Villanueva V., Wirrell E. C., Privitera M., Greenwood S. M., Roberts C., Checketts D., VanLandingham K. E., & Zuberi S. M. (2018): Effect of Cannabidiol on Drop Seizures in the Lennox–Gastaut Syndrome. *N. Engl. J. Med.* 378: 1888–1897.
- Dickson D. W., Farlo J., Davies P., Crystal H., Fuld P., & Yen S. H. (1988): Alzheimer’s disease. A double-labeling immunohistochemical study of senile plaques. *Am. J. Pathol.* 132: 86–101.
- Dubey M., Nagarkoti S., Awasthi D., Singh A. K., Chandra T., Kumaravelu J., Barthwal M. K., & Dikshit M. (2016): Nitric oxide-mediated apoptosis of neutrophils through caspase-8 and caspase-3-dependent mechanism. *Cell Death Dis.* 7: e2348-12.
- Ehrhart J., Obregon D., Mori T., Hou H., Sun N., Bai Y., Klein T., Fernandez F., Tan J., & Shytle D. (2005): Stimulation of cannabinoid receptor 2 (CB 2 ) suppresses microglial activation. *J. Neuroinflammation* 2: 1–13.
- Elmes M. W., Kaczocha M., Berger W. T., Leung K., Ralph B. P., Wang L., Sweeney J. M., Miyauchi J. T., Tsirka S. E., Ojima I., & Deutsch D. G. (2015): Fatty acid-binding proteins (FABPs) are intracellular carriers for  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol (THC) and cannabidiol (CBD). *J. Biol. Chem.* 290: 8711– 721.

- Elsen G. A. H. Van Den, Ahmed A. I. A., Verkes R. J., Kramers C., Feuth T., Rosenberg P. B., Marck M. A. Van Der, & Olde Rikkert M. G. M. (2015): Tetrahydrocannabinol for neuropsychiatric symptoms in dementia: A randomized controlled trial. *Neurology* 84: 2338–2346.
- Felder C. C., Joyce K. E., Briley E. M., Mansouri J., Mackie K., Blond O., Lai Y., Ma A. L., & Mitchell R. L. (1995): Comparison of the pharmacology and signal transduction of the human cannabinoid CB1 and CB2 receptors. *Mol. Pharmacol.* 48: 443 LP – 450.
- Fellermeier M. & Zenk M. H. (1998): Prenylation of olivetolate by a hemp transferase yields cannabigerolic acid, the precursor of tetrahydrocannabinol. *FEBS Lett.* 20216: 283–285.
- Fernández-López D., Martínez-Orgado J., Nuñez E., Romero J., Lorenzo P., Moro M. Á., & Lizasoain I. (2006): Characterization of the neuroprotective effect of the cannabinoid agonist WIN-55212 in an in vitro model of hypoxic-ischemic brain damage in newborn rats. *Pediatr. Res.* 60: 169–173.
- Firsching R., Piek J., Skalej M., Rohde V., Schmidt U., & Striggow F. (2012): Early survival of comatose patients after severe traumatic brain injury with the dual cannabinoid CB1/CB2 receptor agonist KN38-7271: A randomized, double-blind, placebo-controlled phase II trial. *J. Neurol. Surgery, Part A Cent. Eur. Neurosurg.* 73: 204–216.
- \* Fisher R. S., Acevedo C., Arzimanoglou A., Bogacz A., Cross J. H., Elger C. E., Engel J., Forsgren L., French J. A., Glynn M., Hesdorffer D. C., Lee B. I., Mathern G. W., Moshé S. L., Perucca E., Scheffer I. E., Tomson T., Watanabe M., & Wiebe S. (2014): ILAE Official Report: A practical clinical definition of epilepsy. *Epilepsia* 55: 475–482.
- Frei K., Siepl C., Groscurth P., Bodmer S., Schwerdel C., & Fontana A. (1987): Antigen presentation and tumor cytotoxicity by interferon- $\gamma$ -treated microglial cells. *Eur. J. Immunol.* 17: 1271–1278.
- Fride E., Gobshtis N., Dahan H., Weller A., Giuffrida A., & Ben-Shabat S. (2009): The Endocannabinoid System During Development: Emphasis on Perinatal Events and Delayed Effects. *Vitam. Horm.* 81: 139–158.
- Galiègue S., Mary S., Marchand J., Dussossoy D., Carrière D., Carayon P., Bouaboula M., Shire D., Fur G. LE, & Casellas P. (1995): Expression of Central and Peripheral Cannabinoid Receptors in Human Immune Tissues and Leukocyte Subpopulations. *Eur. J. Biochem.* 232: 54–61.
- Gandhi K. S., McKay F. C., Diefenbach E., Crossett B., Schibeci S. D., Heard R. N., Stewart G. J., Booth D. R., & Arthur J. W. (2010): Novel approaches to detect serum biomarkers for clinical response to interferon- $\beta$  treatment in multiple sclerosis. *PLoS One* 5: e10484.
- Gaoni Y. & Mechoulam R. (1964): Isolation, Structure, and Partial Synthesis of an Active Constituent of Hashish. *J. Am. Chem. Soc.* 86: 1646–1647.
- Gebremedhin D., Lange A. R., Campbell W. B., Hillard C. J., & Harder D. R. (1999): Cannabinoid CB1 receptor of cat cerebral arterial muscle functions to inhibit L-type Ca<sup>2+</sup> channel current. *Am. J. Physiol.* 276: H2085-93.
- Gérard C. M., Mollereau C., Vassart G., & Parmentier M. (1991): Molecular cloning of a human cannabinoid receptor which is also expressed in testis. *Biochem. J.* 279: 129–134.
- Glass M. & Felder C. C. (1997): Concurrent stimulation of cannabinoid CB1 and dopamine D2 receptors augments cAMP accumulation in striatal neurons: evidence for a Gs linkage to the CB1 receptor. *J. Neurosci.* 17: 5327–5333.
- \* Gold R., Linington C., & Lassmann H. (2006): Understanding pathogenesis and therapy of multiple sclerosis via animal models: 70 Years of merits and culprits in experimental autoimmune encephalomyelitis research. *Brain* 129: 1953–1971.



- González S., Scorticati C., García-Arencibia M., Miguel R. De, Ramos J. A., & Fernández-Ruiz J. (2006): Effects of rimonabant, a selective cannabinoid CB1 receptor antagonist, in a rat model of Parkinson's disease. *Brain Res.* 1073–1074: 209–219.
- \* Gosselet F., Saint-Pol J., Fenart P. C. and L. (2013): Amyloid- $\beta$  Peptides, Alzheimer's Disease and the Blood-brain Barrier. *Current Alzheimer Research.* 10: 1015–1033.
- Guggenhuber S., Monory K., Lutz B., & Klugmann M. (2010): AAV vector-mediated overexpression of CB1 cannabinoid receptor in pyramidal neurons of the hippocampus protects against seizure-induced excitotoxicity. *PLoS One* 5: 1–8.
- Hájos N., Katona I., Naiem S. S., Mackie K., Ledent C., Mody I., Freund T. F., & Ha N. (2000): Cannabinoids inhibit hippocampal GABAergic transmission and network oscillations. *Eur. J. Neurosci.* 12: 3239–3249.
- Hampson A. J., Bornheim L. M., Scanziani M., Yost C. S., Gray A. T., Hansen B. M., Leonoudakis D. J., & Bickler P. E. (1998): Dual effects of anandamide on NMDA receptor-mediated responses and neurotransmission. *J. Neurochem.* 70: 671–676.
- Hampson R. E., Evans G. J., Mu J., Zhuang S., King V. C., Childers S. R., & Deadwyler S. A. (1995): Role Of Cyclic AMP Dependent Protein Kinase in Cannabinoid Receptor Modulation Of Potassium "A-current" In Cultured Rat Hippocampal Neurons. *Life Sci.* 3205: 2081–2088.
- Herkenam M., Lynn A. B., Johnson M. R., Melvin L. S., Costa B. R. De, & Rice C. (1991): Characterization and Localization of Cannabinoid Receptors Brain : A Quantitative in vitro Autoradiographic Study in Rat. *J. Neurosci.* 7: 563–583.
- Hill A. J., Mercier M. S., Hill T. D. M., Glyn S. E., Jones N. A., Yamasaki Y., Futamura T., Duncan M., Stott C. G., Stephens G. J., Williams C. M., & Whalley B. J. (2012): Cannabidiol is anticonvulsant in mouse and rat. *Br. J. Pharmacol.* 167: 1629–1642.
- Holbourn A. H. S. (1943): Mechanics of Head Injuries. *The Lancet.* 9: 438–441.
- Hollister L. E. (1973): Cannabidiol and cannabinol in man. *Experientia* 29: 825–826.
- Howlett A. C., Bidaut-Russell M., Devane W. A., Melvin L. S., Johnson M. R., & Herkenham M. (1990): The cannabinoid receptor: biochemical, anatomical and behavioral characterization. *Trends Neurosci.* 13: 420–423.
- \* Howlett A. C., Casellas P., & Devane W. (2002): International Union of Pharmacology . XXVII . Classification of Cannabinoid Receptors. *Pharmacol. Rev.* 54: 161–202.
- Howlett A. C. & Fleming R. M. (1984): Cannabinoid inhibition of adenylate cyclase. Pharmacology of the response in neuroblastoma cell membranes. *Mol. Pharmacol.* 26: 532 LP – 538.
- Howlett A. C., Quail J. M., & Khachatrian L. L. (1986): Involvement of Gi in the inhibition of adenylate cyclase by cannabimimetic drugs. *Mol. Pharmacol.* 29: 307 LP – 313.
- Jones N. A., Glyn S. E., Akiyama S., Hill T. D. M., Hill A. J., Weston S. E., Burnett M. D. A., Yamasaki Y., Stephens G. J., Whalley B. J., & Williams C. M. (2012): Cannabidiol exerts anti-convulsant effects in animal models of temporal lobe and partial seizures. *Seizure* 21: 344–352.
- Kaczocha M., Glaser S. T., & Deutsch D. G. (2009): Identification of intracellular carriers for the endocannabinoid anandamide. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 106: 1–6.
- Kaltschmidt C., Kaltschmidt B., Lannes-Vieira J., Kreutzberg G. W., Wekerle H., Baeuerle P. A., & Gehrmann J. (1994): Transcription factor NF- $\kappa$ B is activated in microglia during experimental autoimmune encephalomyelitis. *J. Neuroimmunol.* 55: 99–106.

- Kargl J., Balenga N., Parzmair G. P., Brown A. J., Heinemann A., & Waldhoer M. (2012): The cannabinoid receptor CB1 modulates the signaling properties of the lysophosphatidylinositol receptor GPR55. *J. Biol. Chem.* 287: 44234–44248.
- Karniol I. G., Shirakawa I., Takahashi R. N., Knobl E., & Musty R. E. (1975): Effects of Tetrahydrocannabinol and cannabiol in Man. *Pharmacology* 502–551.
- Kawahara M. & Kuroda Y. (2000): Molecular mechanism of neurodegeneration induced by Alzheimer's  $\beta$ -amyloid protein: Channel formation and disruption of calcium homeostasis. *Brain Res. Bull.* 53: 389–397.
- Klegeris A., Bissonnette C. J., & McGeer P. L. (2003): Reduction of human monocytic cell neurotoxicity and cytokine secretion by ligands of the cannabinoid-type CB2 receptor. *Br. J. Pharmacol.* 139: 775–786.
- Kondo S., Kondo H., Nakane S., Kodaka T., Tokumura A., Waku K., & Y T. S. (1998): 2-Arachidonoylglycerol, an endogenous cannabinoid receptor agonist: identification as one of the major species of monoacylglycerols in various rat tissues, and evidence for its generation through  $\text{Ca}^{2+}$ -dependent and -independent mechanisms. *FEBS Lett.* 429: 152–156.
- Kozak K. R., Crews B. C., Morrow J. D., Wang L. H., Ma Y. H., Weinander R., Jakobsson P. J., & Marnett L. J. (2002): Metabolism of the endocannabinoids, 2-arachidonoylglycerol and anandamide, into prostaglandin, thromboxane, and prostacyclin glycerol esters and ethanolamides. *J. Biol. Chem.* 277: 44877–44885.
- Kozela E., Lev N., Kaushansky N., Eilam R., Rimmerman N., Levy R., Ben-Nun A., Juknat A., & Vogel Z. (2011): Cannabidiol inhibits pathogenic T cells, decreases spinal microglial activation and ameliorates multiple sclerosis-like disease in C57BL/6 mice. *Br. J. Pharmacol.* 163: 1507–1519.
- Krabbe G., Halle A., Matyash V., Rinnenthal J. L., Eom G. D., Bernhardt U., Miller K. R., Prokop S., Kettenmann H., & Heppner F. L. (2013): Functional Impairment of Microglia Coincides with Beta-Amyloid Deposition in Mice with Alzheimer-Like Pathology. *PLoS One* 8: e60921.
- Kury L. T. Al, Voitychuk O. I., Yang K. H. S., Thayyullathil F. T., Doroshenko P., Ramez A. M., Shuba Y. M., Galadari S., Howarth F. C., & Oz M. (2014): Effects of the endogenous cannabinoid anandamide on voltage-dependent sodium and calcium channels in rat ventricular myocytes. *Br. J. Pharmacol.* 171: 3485–3498.
- Larrick J. W. & Wright S. C. (1990): Cytotoxic mechanism of tumor necrosis factor- $\alpha$ . *FASEB J.* 4: 3215–3223.
- Li X., Hua T., Vemuri K., Ho J. H., Wu Y., Wu L., Popov P., Benchama O., Zvonok N., Locke K., Qu L., Han G. W., Iyer M. R., Cinar R., Coffey N. J., Wang J., Wu M., Katritch V., Zhao S., Kunos G., Bohn L. M., Makriyannis A., Stevens R. C., & Liu Z. J. (2019): Crystal Structure of the Human Cannabinoid Receptor CB2. *Cell* 176: 459-467.e13.
- Liebscher S. & Meyer-Luehmann M. (2012): A peephole into the brain: Neuropathological features of Alzheimer's disease revealed by in vivo two-photon imaging. *Front. Psychiatry* 3: 1–11.
- Louvet A., Teixeira-Clerc F., Chobert M. N., Deveau V., Pavoine C., Zimmer A., Pecker F., Mallat A., & Lotersztajn S. (2011): Cannabinoid CB2 receptors protect against alcoholic liver disease by regulating Kupffer cell polarization in mice. *Hepatology* 54: 1217–1226.
- Lublin F. D. & Reingold S. C. (1996): Defining the clinical course of multiple sclerosis: Results of an international survey. *Neurology* 46: 907–911.

- Luo X. Q., Li A., Yang X., Xiao X., Hu R., Wang T. W., Dou X. Y., Yang D. J., & Dong Z. (2018): Paeoniflorin exerts neuroprotective effects by modulating the M1/M2 subset polarization of microglia/macrophages in the hippocampal CA1 region of vascular dementia rats via cannabinoid receptor 2. *Chinese Med. (United Kingdom)* 13: 1–17.
- Maas A. I. R., Murray G., Henney H., Kassem N., Legrand V., Mangelus M., Muizelaar J. P., Stocchetti N., & Knoller N. (2006): Efficacy and safety of dexamethasone in severe traumatic brain injury: Results of a phase III randomised, placebo-controlled, clinical trial. *Lancet Neurol.* 5: 38–45.
- Mackie K., Lai Y., Westenbroek R., & Mitchell R. (1995): Cannabinoids activate an inwardly rectifying potassium conductance and inhibit Q-type calcium currents in AtT20 cells transfected with rat brain cannabinoid receptor. *J. Neurosci.* 15: 6552 LP – 6561.
- Mao K., You C., Lei D., & Zhang H. (2015): High dosage of cannabidiol (CBD) alleviates pentylenetetrazole-induced epilepsy in rats by exerting an anticonvulsive effect. *Int. J. Clin. Exp. Med.* 8: 8820–8827.
- Maresz K., Pryce G., Ponomarev E. D., Marsicano G., Croxford J. L., Shriver L. P., Ledent C., Cheng X., Carrier E. J., Mann M. K., Giovannoni G., Pertwee R. G., Yamamura T., Buckley N. E., Hillard C. J., Lutz B., Baker D., & Dittel B. N. (2007): Direct suppression of CNS autoimmune inflammation via the cannabinoid receptor CB1 on neurons and CB2 on autoreactive T cells. *Nat. Med.* 13: 492–497.
- Marsicano G., Goodenough S., Monory K., Gutierrez S. O., Casanova E., Behl C., Stelt M. van der, Eder M., Hermann H., Azad S. C., Schutz G., Lutz B., Marzo V. Di, Zieglgansberger W., Cascio M. G., Cannich A., & Lopez-Rodriguez M. L. (2003): CB1 Cannabinoid Receptors and On-Demand Defense Against Excitotoxicity. *Science (80-. )*. 302: 84–88.
- Martín-Moreno A. M., Brera B., Spuch C., Carro E., García-García L., Delgado M., Pozo M. A., Innamorato N. G., Cuadrado A., & Ceballos M. L. de. (2012): Prolonged oral cannabinoid administration prevents neuroinflammation, lowers  $\beta$ -amyloid levels and improves cognitive performance in Tg APP 2576 mice. *J. Neuroinflammation* 9: 8.
- \* Marzo V. Di. (2008): Targeting the endocannabinoid system: to enhance or reduce? *Nat. Rev. Drug Discov.* 7: 438.
- Matsuda L. A., Lolait S. J., Brownstein M. J., Young A. C., & Bonner T. I. (1990): Structure of a cannabinoid receptor and functional expression of the cloned cDNA. *Nature* 346: 561–564.
- McAllister S. D., Griffin G., Satin L. S., & Abood M. E. (1999): Cannabinoid Receptors Can Activate and Inhibit G Protein-Coupled Inwardly Rectifying Potassium Channels in a *Xenopus* Oocyte Expression System. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 291: 618 LP – 626.
- McCallum N., Yagen B., Levy S., & Mechoulam R. (1974): Cannabinol: a Rapidly Formed Metabolite of  $\Delta^1$ - and  $\Delta^6$ -Tetrahydrocannabinol. *Experientia* 589: 520–521.
- Mecha M., Feliú A., Carrillo-Salinas F. J., Rueda-Zubiaurre A., Ortega-Gutiérrez S., Sola R. G. de, & Guaza C. (2015): Endocannabinoids drive the acquisition of an alternative phenotype in microglia. *Brain. Behav. Immun.* 49: 233–245.
- Mechoulam R., Ben-Shabat S., Hanuš L., Gopher A., Martin I. I. B. R., Compton D. R., Pertwee R. G., Barg J., & Vogel Z. V. I. (1995): Identification present in canine gut, that binds to cannabinoid receptors. *Biochem. Pharmacol.* 50: 83–90.
- Mechoulam R., Braun P., & Gaoni Y. (1967): Stereospecific synthesis of (-)- $\Delta^1$ - and (-)- $\Delta^1(6)$ -tetrahydrocannabinols. *J. Am. Chem. Soc.* 89: 4552–4554.

Mechoulam R. & Parker L. A. (2013): The Endocannabinoid System and the Brain. – *Annu. Rev. Psychol.*

\* Meyer M. J., Megyesi J., Meythaler J., Murie-Fernandez M., Aubut J. A., Foley N., Salter K., Bayley M., Marshall S., & Teasell R. (2010): Acute management of acquired brain injury part II: An evidence-based review of pharmacological interventions. *Brain Inj.* 24: 706–721.

Molina-Holgado F., Pinteaux E., Moore J. D., Molina-Holgado E., Guaza C., Gibson R. M., & Rothwell N. J. (2003): Endogenous Interleukin-1 Receptor Antagonist Mediates Anti-Inflammatory and Neuroprotective Actions of Cannabinoids in Neurons and Glia. *J. Neurosci.* 23: 6470–6474.

Monory K., Massa F., Egertová M., Eder M., Blaudzun H., Westenbroek R., Kelsch W., Jacob W., Marsch R., Ekker M., Long J., Rubenstein J. L., Goebbels S., Nave K.-A., During M., Klugmann M., Wölfel B., Dodt H.-U., Zieglgänsberger W., Wotjak C. T., Mackie K., Elphick M. R., Marsicano G., & Lutz B. (2006): The Endocannabinoid System Controls Key Epileptogenic Circuits in the Hippocampus. *Neuron* 4: 455–466.

Munro S., Thomas K. L., & Abu-Shaar M. (1993): Molecular characterization of a peripheral receptor for cannabinoids. *Nature* 365: 61–65.

Naderi N., Ahmad-Molaei L., Aziz Ahari F., & Motamedi F. (2011): Modulation of anticonvulsant effects of cannabinoid compounds by GABA-A receptor agonist in acute pentylenetetrazole model of seizure in rat. *Neurochem. Res.* 36: 1520–1525.

Naidoo V., Nikas S. P., Karanian D. A., Hwang J., Zhao J., Wood J. A. T., Alapafuja S. O., Vadivel S. K., Butler D., Makriyannis A., & Bahr B. A. (2011): A new generation fatty acid amide hydrolase inhibitor protects against kainate-induced excitotoxicity. *J. Mol. Neurosci.* 43: 493–502.

Nguyen B. M., Kim D., Bricker S., Bongard F., Neville A., Putnam B., Smith J., & Plurad D. (2014): Effect of Marijuana use on outcomes in traumatic brain injury. *J. Emerg. Trauma. Shock* 80: 979–983.

Nie J. & Lewis D. L. (2001): Structural Domains of the CB1 Cannabinoid Receptor That Contribute to Constitutive Activity and G-Protein Sequestration. *J. Neurosci.* 21: 8758 LP – 8764.

O’Sullivan S. E., Tarling E. J., Bennett A. J., Kendall D. A., & Randall M. D. (2005): Novel time-dependent vascular actions of  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol mediated by peroxisome proliferator-activated receptor gamma. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 337: 824–831.

Onaivi E. S. (2007): Neuropsychobiological evidence for the functional presence and expression of cannabinoid CB2 receptors in the brain. *Neuropsychobiology* 54: 231–246.

Ortega-Gutiérrez S., Molina-Holgado E., & Guaza C. (2005): Effect of anandamide uptake inhibition in the production of nitric oxide and in the release of cytokines in astrocyte cultures. *Glia* 52: 163–168.

Panikashvili D., Simeonidou C., Ben-Shabat S., Hanuš L., Breuer A., Mechoulam R., & Shohami E. (2001): An endogenous cannabinoid (2-AG) is neuroprotective after brain injury. *Nature* 413: 527–531.

Pasquale E. Di, Chahinian H., Sanchez P., & Fantini J. (2009): The insertion and transport of anandamide in synthetic lipid membranes are both cholesterol-dependent. *PLoS One* 4: e4989.

\* Patel T. B., Du Z., Pierre S., Cartin L., & Scholich K. (2001): Molecular biological approaches to unravel adenylyl cyclase signaling and function. *Gene* 269: 13–25.

\* Pertwee R. G. (2006): Cannabinoid pharmacology: The first 66 years. *Br. J. Pharmacol.* 147: 163–171.

- \* Pertwee R. G. (2008): The diverse CB1 and CB2 receptor pharmacology of three plant cannabinoids: delta9-tetrahydrocannabinol, cannabidiol and delta9-tetrahydrocannabivarin. *Br. J. Pharmacol.* 153: 199–215.
- Price D. a, Martinez A. a, Seillier A., Koek W., Acosta Y., Fernandez E., Strong J. R., Lutz B., Marsicano G., Robert, James L., & Giuffrida A. (2009): WIN55,212-2, a Cannabinoid Receptor Agonist, Protects Against Nigrostriatal Cell Loss in the MPTP Mouse Model of Parkinson's Disease. *Eur. J. Neurosci.* 29: 2177–2186.
- Puffenbarger R. A., Boothe A. C., & Cabral G. A. (2000): Cannabinoids inhibit LPS-inducible cytokine mRNA expression in rat microglial cells. *Glia* 29: 58–69.
- Ramirez B. G., Blázquez C., Gómez del Pulgar T., Guzmán M., & Ceballos M. L. De. (2005): Prevention of Alzheimer's Disease Pathology by Cannabinoids: Neuroprotection Mediated by Blockade of Microglial Activation. *J. Neurosci.* 25: 1904–1913.
- Reilly P. L., Graham D. I., Hume Adams J., & Jennett B. (1975): Patients With Head Injury Who Talk and Die. *Lancet* 306: 375–377.
- Rekand T. (2014): THC: CBD spray and MS spasticity symptoms: Data from latest studies. *Eur. Neurol.* 71: 4–9.
- Rogawski M. A. & Löscher W. (2004): The neurobiology of antiepileptic drugs. *Nat. Rev. Neurosci.* 5: 553–564.
- Ryberg E., Hjorth S., Hermansson N., Leonova J., Elebring T., Larsson N., Sjö S., Nilsson K., Drmota T., & Greasley P. J. (2007): The orphan receptor GPR55 is a novel cannabinoid receptor. *Br. J. Pharmacol.* 1092–1101.
- Sánchez C., Galve-Roperh I., Rueda D., & Guzmán M. (1998): Involvement of Sphingomyelin Hydrolysis and the Mitogen-Activated Protein Kinase Cascade in the  $\Delta^9$ -Tetrahydrocannabinol-Induced Stimulation of Glucose Metabolism in Primary Astrocytes. *Mol. Pharmacol.* 54: 834–843.
- Savonenko A. V., Melnikova T., Wang Y., Ravert H., Gao Y., Koppel J., Lee D., Pletnikova O., Cho E., Sayyida N., Hiatt A., Troncoso J., Davies P., Dannals R. F., Pomper M. G., & Horti A. G. (2015): Cannabinoid CB2 receptors in a mouse model of A $\beta$  amyloidosis: Immunohistochemical analysis and suitability as a PET biomarker of neuroinflammation. *PLoS One* 10: 1–23.
- Schmid H. H. O. & Berdyshev E. V. (2002): Cannabinoid receptor-inactive N-acylethanolamines and other fatty acid amides: Metabolism and function. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fat. Acids* 66: 363–376.
- Shao Z., Yin J., Chapman K., Grzemska M., Clark L., & Rosenbaum D. M. (2017): High-resolution crystal structure of the human CB1 cannabinoid receptor. *Nature* 540: 602–606.
- Shen M. & Thayer S. A. (1998): Cannabinoid Receptor Agonists Protect Cultured Rat Hippocampal Neurons from Excitotoxicity. *Mol. Pharmacol.* 54: 459–462.
- Sieradzan K. A., Fox S. H., Hill M., Dick J. P. R., Crossman A. R., Brotchie J. M., & Therapeutic. (2001): Cannabinoids reduce levodopa-induced dyskinesia in Parkinson's disease: A pilot study. *Neurology* 19: 2108–2111.
- \* Siesjö B. K. & Siesjö P. (1996): Mechanisms of secondary brain injury. *Eur. J. Anaesthesiol.* 13: 247–268.
- Sinor A. D., Irvin S. M., & Greenberg D. A. (2000): Endocannabinoids protect cerebral cortical neurons from in vitro ischemia in rats. *Neurosci. Lett.* 278: 157–160.

- Solas M., Francis P. T., Franco R., & Ramirez M. J. (2013): CB2 receptor and amyloid pathology in frontal cortex of Alzheimer's disease patients. *Neurobiol. Aging* 34: 805–808.
- Spillantini M. G., Crowther R. A., Jakes R., Hasegawa M., & Goedert M. (1998): Synuclein in filamentous inclusions of Lewy bodies from Parkinson's disease and dementia with Lewy bodies. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 95: 6469–6473.
- Staton P. C., Hatcher J. P., Walker D. J., Morrison A. D., Shapland E. M., Hughes J. P., Chong E., Mander P. K., Green P. J., Billinton A., Fulleylove M., Lancaster H. C., Smith J. C., Bailey L. T., Wise A., Brown A. J., Richardson J. C., & Chessell I. P. (2008): The putative cannabinoid receptor GPR55 plays a role in mechanical hyperalgesia associated with inflammatory and neuropathic pain. *Pain* 139: 225–236.
- Stella N., Schweitzer P., & Piomelli D. (1997): A second endogenous cannabinoid that modulates long-term potentiation. *Nature* 388: 773–777.
- Stelt M. Van Der, Mazzola C., Esposito G., Matias I., Petrosino S., Filippis D. De, Micale V., Steardo L., Drago F., Iuvone T., & Marzo V. Di. (2006): Endocannabinoids and  $\beta$ -amyloid-induced neurotoxicity in vivo: Effect of pharmacological elevation of endocannabinoid levels. *Cell. Mol. Life Sci.* 63: 1410–1424.
- Stelt M. van der, Veldhuis W. B., Bär P. R., Veldink G. A., Vliegthart J. F. G., & Nicolay K. (2001): Neuroprotection by  $\Delta^9$ -Tetrahydrocannabinol, the Main Active Compound in Marijuana, against Ouabain-Induced In Vivo Excitotoxicity. *J. Neurosci.* 21: 6475–6479.
- Stempel V., Stumpf A., Zhang H.-Y., Özdoğan T., Pannasch U., Theis A., Otte D., Wojtalla A., Rácz I., Ponomarenko A., Xi Z., Zimmer A., & Schmitz D. (2017): Cannabinoid Type 2 Receptors Mediate a Cell Type-Specific Plasticity in the Hippocampus. *Neuron* 46: 1247–1262.
- Stone L. A., Frank J. A., Albert P. S., Bash C., Smith M. E., Maloni H., & McFarland H. F. (1995): The effect of interferon- $\beta$  on blood—brain barrier disruptions demonstrated by contrast-enhanced magnetic resonance imaging in relapsing—remitting multiple sclerosis. *Ann. Neurol.* 37: 611–619.
- \* Sugiura T., Kobayashi Y., Oka S., & Waku K. (2002): Biosynthesis and degradation of anandamide and 2-arachidonoylglycerol and their possible physiological significance. *Prostaglandins Leukot. Essent. Fat. Acids* 66: 173–192.
- Sugiura T., Kodaka T., Kondo S., Nakane S., Kondo H., Waku K., Ishima Y., Watanabe K., & Yamamoto I. (1997): Is the cannabinoid CB1 receptor a 2-arachidonoylglycerol receptor? Structural requirements for triggering a  $\text{Ca}^{2+}$  transient in NG108-15 cells. *J. Biochem.* 122: 890–895.
- Sugiura T., Kodaka T., Kondo S., Tonegawa T., Nakane S., Kishimoto S., Yamashita A., & Waku K. (1997): Inhibition by 2-arachidonoylglycerol, a novel type of possible neuromodulator, of the depolarization-induced increase in intracellular free calcium in neuroblastoma x glioma hybrid NG108-15 cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 233: 207–210.
- Sugiura T., Kondo S., Kishimoto S., Miyashita T., Nakane S., Kodaka T., Suhara Y., Takayama H., & Waku K. (2000): Evidence that 2-arachidonoylglycerol but not N-palmitoylethanolamine or anandamide is the physiological ligand for the cannabinoid CB2 receptor. Comparison of the agonistic activities of various cannabinoid receptor ligands in HL-60 cells. *J. Biol. Chem.* 275: 605–612.
- Sun D. A., Deshpande L. S., Sombati S., Baranova A., Wilson M. S., Hamm R. J., & DeLorenzo R. J. (2008): Traumatic brain injury causes a long-lasting calcium ( $\text{Ca}^{2+}$ )-plateau of elevated intracellular  $\text{Ca}^{2+}$  levels and altered  $\text{Ca}^{2+}$  homeostatic mechanisms in hippocampal neurons surviving brain injury. *Eur. J. Neurosci.* 27: 1659–1672.

- Tchantchou F., Tucker L. B., Fu A. H., Bluett R. J., McCabe J. T., Patel S., & Zhang Y. (2014): The fatty acid amide hydrolase inhibitor PF-3845 promotes neuronal survival, attenuates inflammation and improves functional recovery in mice with traumatic brain injury. *Neuropharmacology* 85: 427–439.
- Ternianov A., Pérez-ortiz J. M., Solesio M. E., García-gutiérrez M. S., & Manzanares J. (2012): Overexpression of CB2 cannabinoid receptors results in neuroprotection against behavioral and neurochemical alterations induced by intracaudate administration of 6-hydroxydopamine. *Neurobiol. Aging* 33: 421.e1-421.e16.
- Thiele E. A., Marsh E. D., French J. A., Mazurkiewicz M. B., Benbadis S. R., Joshi C., Lyons P. D., Taylor A., Roberts C., Sommerville K., Gunning B., Gawlowicz J., Lisewski P., Mitosek Szewczyk K., Steinborn B., Zolnowska M., Hughes E., McLellan A., Benbadis S., Ciliberto M., Clark G., Dlugos D., Filloux F., Flamini R., French J., Frost M., Haut S., Joshi C., Kapoor S., Kessler S., Laux L., Lyons P., Marsh E., Moore D., Morse R., Nagaraddi V., Rosenfeld W., Seltzer L., Shellhaas R., Thiele E., Thio L. L., Wang D., & Wilfong A. (2018): Cannabidiol in patients with seizures associated with Lennox-Gastaut syndrome (GWPCARE4): a randomised, double-blind, placebo-controlled phase 3 trial. *Lancet* 391: 1085–1096.
- Thomas A., Baillie G. L., Phillips A. M., Razdan R. K., Ross R. A., & Pertwee R. G. (2007): Cannabidiol displays unexpectedly high potency as an antagonist of CB 1 and CB 2 receptor agonists in vitro. *Br. J. Pharmacol.* 150: 613–623.
- Tognetto M., Amadesi S., Harrison S., Creminon C., Trevisani M., Carreras M., Matera M., Geppetti P., & Bianchi A. (2001): Anandamide Excites Central Terminals of Dorsal Root Ganglion Neurons via Vanilloid Receptor-1 Activation. *J. Neurosci.* 21: 1104–1109.
- Tolón R. M., Núñez E., Pazos M. R., Benito C., Castillo A. I., Martínez-Orgado J. A., & Romero J. (2009): The activation of cannabinoid CB2 receptors stimulates in situ and in vitro beta-amyloid removal by human macrophages. – *Brain Res.*
- Tóth A., Boczán J., Kedei N., Lizanecz E., Bagi Z., Papp Z., Édes I., Csiba L., & Blumberg P. M. (2005): Expression and distribution of vanilloid receptor 1 (TRPV1) in the adult rat brain. *Mol. Brain Res.* 135: 162–168.
- Tsunoda I. & Fujinami R. S. (2010): Neuropathogenesis of theiler's murine encephalomyelitis virus infection, an animal model for multiple sclerosis. *J. Neuroimmune Pharmacol.* 5: 355–369.
- Vogel Z., Barg J., Levy R., Saya D., Heldman E., & Mechoulam R. (1993): Anandamide, a Brain Endogenous Compound, Interacts Specifically with Cannabinoid Receptors and Inhibits Adenylate Cyclase. *J. Neurochem.* 61: 352–355.
- Wallace M. J., Wiley J. L., Martin B. R., & DeLorenzo R. J. (2001): Assessment of the role of CB1 receptors in cannabinoid anticonvulsant effects. *Eur. J. Pharmacol.* 428: 51–57.
- Yuan M., Kiertscher S. M., Cheng Q., Zoumalan R., Tashkin D. P., & Roth M. D. (2002):  $\Delta^9$ -Tetrahydrocannabinol regulates Th1/Th2 cytokine balance in activated human T cells. *J. Neuroimmunol.* 133: 124–131.
- Zajicek J., Fox P., Sanders H., Wright D., Vickery J., Nunn A., & Thompson A. (2003): Cannabinoids for treatment of spasticity and other symptoms related to multiple sclerosis (CAMS study): Multicentre randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 362: 1517–1526.
- Zhang J., Teng Z., Song Y., Hu M., & Chen C. (2015): Inhibition of monoacylglycerol lipase prevents chronic traumatic encephalopathy-like neuropathology in a mouse model of repetitive mild closed head injury. *J. Perinatol.* 35: 443–453.

- Zoratti C., Kipmen-Korgun D., Osibow K., Malli R., & Graier W. F. (2003): Anandamide initiates Ca<sup>2+</sup> signaling via CB<sub>2</sub> receptor linked to phospholipase C in calf pulmonary endothelial cells. *Br. J. Pharmacol.* 140: 1351–1362.
- Zou S. & Kumar U. (2018): Cannabinoid receptors and the endocannabinoid system: Signaling and function in the central nervous system. *Int. J. Mol. Sci.* 19:.
- Zygmunt P. M., Petersson J., Marzo V. Di, Julius D., & Ho E. D. (1999): Vanilloid receptors on sensory nerves mediate the vasodilator action of anandamide. *Nature* 400: 6–11.

(\*) sekundární citace